

Aus der Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und  
Kieferkrankheiten der Westfälischen Wilhelms-  
Universität Münster

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Dr. R. Becker

Die Fluoridanalytik im Plasma bei der Osteoporose-  
Therapie mit Natriumfluorid-Medikation

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n  
zur

Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde  
der Fachbereiche

5 vorklinische und theoretische Medizin und  
6 klinische Medizin

einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

vorgelegt von  
Hans-Jürgen S c h w a a b  
Schweinfurt

1981



Aus der Poliklinik und Klinik für Zahn-, Mund- und  
Kieferkrankheiten der Westfälischen Wilhelms-  
Universität Münster  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Dr. R. Becker

Die Fluoridanalytik im Plasma bei der Osteoporose-  
Therapie mit Natriumfluorid-Medikation

In a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n  
zur

Erlangung des Doktorgrades der Zahnheilkunde  
der Fachbereiche

5 vorklinische und theoretische Medizin und  
6 klinische Medizin

einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

vorgelegt von  
Hans-Jürgen S c h w a a b  
Schweinfurt

1981



\* Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Prof. Dr. H. Themann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Büttner

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Marxkors

Aus der Medizinischen Poliklinik  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Büttner

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Marxkors

### Zusammenfassung

Hans-Jürgen Schwaab

Die Fluoridanalytik im Plasma bei der Osteoporosetherapie mit  
Natriumfluorid-Medikation

Nach Durchführung der Vorversuche lassen sich folgende Aussagen formulieren:

1. Die bislang verwandten Puffer zur Bestimmung des Fluoridgehaltes im Plasma sind noch nicht ausgereift.
2. Durch das verwandte Puffergemisch konnte die Bestimmungszeit erheblich gesenkt werden.
3. Die Aufbereitungsform des Blutes hat keinen Einfluß auf die Genauigkeit der Fluoridangabe der Elektrode.

Die Durchführung der 24-Stundenprofile von Fluorid ergaben, daß das Medikament Ossin nur sehr unvollständig resorbiert wird und nach einer einzelnen Einnahme kaum Wirkung erzielen dürfte. Die einmalige Gabe von 18 mg NaF bewirkt eine recht angehobene Fluoridkonzentration im Blut über 24 Stunden hinaus, so daß auf Grund dieser Tatsache eine Revidierung der empfohlenen einmaligen Gabe von 100 mg NaF pro Tag auf die vielleicht mit weniger unangenehmen Nebenwirkungen hervorrufenden kleineren Dosen bei 2 - 3maliger Einnahme sinnvoller erscheint. Das Medikament Ossin jedenfalls scheint die von Ihm erwartete Wirkung nicht erzielen zu können.

Tag der Promotion: 10.03.81

Einleitung

1. Zielsetzung

2. Aufgabenstellung

3. Methodik

4. Ergebnisse

5. Diskussion

6. Zusammenfassung

7. Literaturverzeichnis

8. Anhang

9. Glossar

10. Index

11. Abbildungen

12. Tabellen

13. Formeln

14. Diagramme

15. Skizzen

16. Zeichnungen

17. Fotografien

18. Karten

19. Diagramme

20. Tabellen

21. Formeln

22. Diagramme

23. Tabellen

24. Formeln

25. Diagramme

26. Tabellen

27. Formeln

28. Diagramme

29. Tabellen

30. Formeln

31. Diagramme

32. Tabellen

33. Formeln

34. Diagramme

35. Tabellen

36. Formeln

37. Diagramme

38. Tabellen

39. Formeln

40. Diagramme

41. Tabellen

42. Formeln

43. Diagramme

44. Tabellen

45. Formeln

46. Diagramme

47. Tabellen

48. Formeln

49. Diagramme

50. Tabellen

51. Formeln

52. Diagramme

53. Tabellen

54. Formeln

55. Diagramme

56. Tabellen

57. Formeln

58. Diagramme

59. Tabellen

60. Formeln

61. Diagramme

62. Tabellen

63. Formeln

64. Diagramme

65. Tabellen

66. Formeln

67. Diagramme

68. Tabellen

69. Formeln

70. Diagramme

71. Tabellen

72. Formeln

73. Diagramme

74. Tabellen

75. Formeln

76. Diagramme

77. Tabellen

78. Formeln

79. Diagramme

80. Tabellen

81. Formeln

82. Diagramme

83. Tabellen

84. Formeln

85. Diagramme

86. Tabellen

87. Formeln

88. Diagramme

89. Tabellen

90. Formeln

91. Diagramme

92. Tabellen

93. Formeln

94. Diagramme

95. Tabellen

96. Formeln

97. Diagramme

98. Tabellen

99. Formeln

100. Diagramme

101. Tabellen

102. Formeln

103. Diagramme

104. Tabellen

105. Formeln

106. Diagramme

107. Tabellen

108. Formeln

109. Diagramme

110. Tabellen

111. Formeln

112. Diagramme

113. Tabellen

114. Formeln

115. Diagramme

116. Tabellen

117. Formeln

118. Diagramme

119. Tabellen

120. Formeln

121. Diagramme

122. Tabellen

123. Formeln

124. Diagramme

125. Tabellen

126. Formeln

127. Diagramme

128. Tabellen

129. Formeln

130. Diagramme

131. Tabellen

132. Formeln

133. Diagramme

134. Tabellen

135. Formeln

136. Diagramme

137. Tabellen

138. Formeln

139. Diagramme

140. Tabellen

141. Formeln

142. Diagramme

143. Tabellen

144. Formeln

145. Diagramme

146. Tabellen

147. Formeln

148. Diagramme

149. Tabellen

150. Formeln

151. Diagramme

152. Tabellen

153. Formeln

154. Diagramme

155. Tabellen

156. Formeln

157. Diagramme

158. Tabellen

159. Formeln

160. Diagramme

161. Tabellen

162. Formeln

163. Diagramme

164. Tabellen

165. Formeln

166. Diagramme

167. Tabellen

168. Formeln

169. Diagramme

170. Tabellen

171. Formeln

172. Diagramme

173. Tabellen

174. Formeln

175. Diagramme

176. Tabellen

177. Formeln

178. Diagramme

179. Tabellen

180. Formeln

181. Diagramme

182. Tabellen

183. Formeln

184. Diagramme

185. Tabellen

186. Formeln

187. Diagramme

188. Tabellen

189. Formeln

190. Diagramme

191. Tabellen

192. Formeln

193. Diagramme

194. Tabellen

195. Formeln

196. Diagramme

197. Tabellen

198. Formeln

199. Diagramme

200. Tabellen

201. Formeln

202. Diagramme

203. Tabellen

204. Formeln

205. Diagramme

206. Tabellen

207. Formeln

208. Diagramme

209. Tabellen

210. Formeln

211. Diagramme

212. Tabellen

213. Formeln

214. Diagramme

215. Tabellen

216. Formeln

217. Diagramme

218. Tabellen

219. Formeln

220. Diagramme

221. Tabellen

222. Formeln

223. Diagramme

224. Tabellen

225. Formeln

226. Diagramme

227. Tabellen

228. Formeln

229. Diagramme

230. Tabellen

231. Formeln

232. Diagramme

233. Tabellen

234. Formeln

235. Diagramme

236. Tabellen

237. Formeln

238. Diagramme

239. Tabellen

240. Formeln

241. Diagramme

242. Tabellen

243. Formeln

244. Diagramme

245. Tabellen

246. Formeln

247. Diagramme

248. Tabellen

249. Formeln

250. Diagramme

251. Tabellen

252. Formeln

253. Diagramme

254. Tabellen

255. Formeln

256. Diagramme

257. Tabellen

258. Formeln

259. Diagramme

260. Tabellen

261. Formeln

262. Diagramme

263. Tabellen

264. Formeln

265. Diagramme

266. Tabellen

267. Formeln

268. Diagramme

269. Tabellen

270. Formeln

271. Diagramme

272. Tabellen

273. Formeln

274. Diagramme

275. Tabellen

276. Formeln

277. Diagramme

278. Tabellen

279. Formeln

280. Diagramme

281. Tabellen

282. Formeln

283. Diagramme

284. Tabellen

285. Formeln

286. Diagramme

287. Tabellen

288. Formeln

289. Diagramme

290. Tabellen

291. Formeln

292. Diagramme

293. Tabellen

294. Formeln

295. Diagramme

296. Tabellen

297. Formeln

298. Diagramme

299. Tabellen

300. Formeln

301. Diagramme

302. Tabellen

303. Formeln

304. Diagramme

305. Tabellen

306. Formeln

307. Diagramme

308. Tabellen

309. Formeln

310. Diagramme

311. Tabellen

312. Formeln

313. Diagramme

314. Tabellen

315. Formeln

316. Diagramme

317. Tabellen

318. Formeln

319. Diagramme

320. Tabellen

321. Formeln

322. Diagramme

323. Tabellen

324. Formeln

325. Diagramme

326. Tabellen

327. Formeln

328. Diagramme

329. Tabellen

330. Formeln

331. Diagramme

332. Tabellen

333. Formeln

334. Diagramme

335. Tabellen

336. Formeln

337. Diagramme

338. Tabellen

339. Formeln

340. Diagramme

341. Tabellen

342. Formeln

343. Diagramme

344. Tabellen

345. Formeln

346. Diagramme

347. Tabellen

348. Formeln

349. Diagramme

350. Tabellen

351. Formeln

352. Diagramme

353. Tabellen

354. Formeln

355. Diagramme

356. Tabellen

357. Formeln

358. Diagramme

359. Tabellen

360. Formeln

361. Diagramme

362. Tabellen

363. Formeln

364. Diagramme

365. Tabellen

366. Formeln

367. Diagramme

368. Tabellen

369. Formeln

370. Diagramme

371. Tabellen

372. Formeln

373. Diagramme

374. Tabellen

375. Formeln

376. Diagramme

377. Tabellen

378. Formeln

379. Diagramme

380. Tabellen

381. Formeln

382. Diagramme

383. Tabellen

384. Formeln

385. Diagramme

386. Tabellen

387. Formeln

388. Diagramme

389. Tabellen

390. Formeln

391. Diagramme

392. Tabellen

393. Formeln

394. Diagramme

395. Tabellen

396. Formeln

397. Diagramme

398. Tabellen

399. Formeln

400. Diagramme

401. Tabellen

402. Formeln

403. Diagramme

404. Tabellen

405. Formeln

406. Diagramme

407. Tabellen

408. Formeln

409. Diagramme

410. Tabellen

411. Formeln

412. Diagramme

413. Tabellen

414. Formeln

415. Diagramme

416. Tabellen

417. Formeln

418. Diagramme

419. Tabellen

420. Formeln

421. Diagramme

422. Tabellen

423. Formeln

424. Diagramme

425. Tabellen

426. Formeln

427. Diagramme

428. Tabellen

429. Formeln

430. Diagramme

431. Tabellen

432. Formeln

433. Diagramme

434. Tabellen

435. Formeln

436. Diagramme

437. Tabellen

438. Formeln

439. Diagramme

440. Tabellen

441. Formeln

442. Diagramme

443. Tabellen

444. Formeln

445. Diagramme

446. Tabellen

447. Formeln

448. Diagramme

449. Tabellen

450. Formeln

451. Diagramme

452. Tabellen

453. Formeln

454. Diagramme

455. Tabellen

456. Formeln

457. Diagramme

458. Tabellen

459. Formeln

460. Diagramme

461. Tabellen

462. Formeln

463. Diagramme

464. Tabellen

465. Formeln

466. Diagramme

467. Tabellen

468. Formeln

469. Diagramme

470. Tabellen

471. Formeln

472. Diagramme

473. Tabellen

474. Formeln

475. Diagramme

476. Tabellen

477. Formeln

478. Diagramme

479. Tabellen

480. Formeln

481. Diagramme

482. Tabellen

483. Formeln

484. Diagramme

485. Tabellen

486. Formeln

487. Diagramme

488. Tabellen

489. Formeln

490. Diagramme

491. Tabellen

492. Formeln

493. Diagramme

494. Tabellen

495. Formeln

496. Diagramme

497. Tabellen

498. Formeln

499. Diagramme

500. Tabellen

Meinen Eltern

# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                   | Seite |
|-------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. Einleitung und Fragestellung                                   | 1     |
| 2. Literaturübersicht                                             | 3     |
| 2.1 Die klinische Anwendung von Natriumfluorid                    | 3     |
| 2.2 Methoden der Fluoridbestimmung im Vollblut, Plasma oder Serum | 11    |
| 3. Eigene Untersuchungen                                          | 19    |
| 3.1 Material und Methode                                          | 19    |
| 3.1.1 Probanden und Versuchsdurchführung                          | 19    |
| 3.1.2 Versuchsreihen                                              | 19    |
| 3.1.3 Fluoridanalytik                                             | 23    |
| 3.1.4 Laboratoriumstechnische Versuchsdurchführung                | 30    |
| 3.2 Ergebnisse                                                    | 33    |
| 3.2.1 Überprüfung der Puffer                                      | 33    |
| 3.2.2 Vergleich der Probenaufbereitungsarten                      | 36    |
| 3.2.3 Tagesprofile der $F^-$ -Konzentrationen im Plasma           | 39    |
| 4. Diskussion                                                     | 58    |
| 5. Zusammenfassung                                                | 66    |
| 6. Literaturverzeichnis                                           | 67    |
| Lebenslauf                                                        | 79    |

## 1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Die Osteoporose erfordert infolge ihres gehäuftten Auftretens das besondere Interesse der klinischen Medizin. Die als Verminderung der Skelettmasse ohne wesentliche Änderung der biochemischen Zusammensetzung des Knochens definierte Krankheit befällt in ihrer primären Form immerhin 20 - 30 % der Frauen und 6 - 12 % der Männer der weißen Bevölkerung im Alter von mehr als 60 Jahren. Auf die Bundesrepublik bezogen erwartet KROKOWSKI das Krankheitsbild immerhin bei etwa 7 Millionen Bürgern, wobei die Frequenz mit dem Alter zunimmt. Erstmals lenkte LEONE et al, im Jahre 1955 die Aufmerksamkeit auf die Fluoridbehandlung bei der Prävention der Osteoporose. Die ersten therapeutischen Versuche unternahmen RICH und ENSICK mittels langfristiger Fluorbehandlung. Seit dieser Zeit konnte noch keine andere Therapie die Wirksamkeit dieser Behandlung erreichen.

Die Vorgänge bei der skelettalen Fluoridretention sind mittlerweile so weitgehend bekannt, daß eine Therapie, die auf eine künstliche Skelettfluorose hinzielt, vertretbar erscheint. Die Therapie der Osteoporose mittels Natriumfluorid forderte jedoch, infolge der auftretenden Nebenwirkungen, ein ständiges Überdenken. Um insbesondere das Problem der gastrointestinalen Unverträglichkeit auszuschließen, wurde das Natriumfluorid galenisch so verpackt, daß eine Umgehung des Magens erreicht wurde. In Westdeutschland erschien das Mittel unter dem Namen Ossin. Es enthält 40 mg Natriumfluorid, was einer Dosis von 18 mg  $F^-$  entspricht. Die in der Literatur im allgemeinen vorgeschlagenen Therapiemengen werden zwar in mg Natriumfluorid angegeben; ein Hinweis auf die Art

der galenischen Verpackung findet sich jedoch nicht. Bei dem Natriumfluoridmedikament Ossin wurde dabei von der Voraussetzung ausgegangen, daß der Körper auch nach Ausschaltung des Magens eine ähnlich große Fluoridmenge resorbiert, wie dies bei der unretardierten Verabreichung geschieht. Da jedoch nur der Fluoridspiegel im Blut einen direkten Parameter für die Resorptionsmöglichkeit durch den Knochen darstellt, und nicht die in verschiedener Form über den Darm verabreichte Menge Natriumfluorid, sollte in dieser Arbeit ein Vergleich der Resorptionsfähigkeit von Fluorid bei unterschiedlicher Verabreichungsform mittels eines 24-Stunden-Profils erfolgen, wobei die Höhe der Dosis der Osteoporosetherapie berücksichtigt wurde. Mit Hilfe dieser Untersuchung ist dann erst möglich, die Wirksamkeit des Ossin oder ähnlich galenisch verpackter Fluoridmedikamente mit Retardeffekt auf ihre therapeutische Wirksamkeit hin zu überprüfen.

Auf Grund der Toxizität des Medikaments Fluorid bei hohen Dosen wird eine ständige Kontrolle des Fluoridspiegels gefordert. Dies erfordert jedoch ein laboratoriumstechnisch ausgereiftes und ergonomische Faktoren berücksichtigendes Verfahren, das es meiner Meinung nach noch nicht gibt. Ein Schritt auf diesem Wege sollte ein Vorversuch sein, der die Einstellzeiten der Fluoridelektrode bei unterschiedlichen Puffern vergleicht.

Weiterhin sollte in dieser Arbeit ein besonderes Augenmerk auf einige bei der Literaturdurchsicht offen gebliebene Fragen bezüglich der Vergleichbarkeit der erhaltenen Fluoridkonzentrationen nach unterschiedlichen Blutaufbereitungsarten der verschiedenen Autoren erbringen, mit denen der Fluoridspiegel im Blut gemessen wird.

## 2. LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 Die klinische Anwendung von Natriumfluorid

Neben der ambulant durchgeführten Fluoridanwendung in der Kariesprophylaxe, deren Erfolg mittlerweile unbestritten sein sollte, ergibt sich seit dem Jahr 1961 (60) ein größeres Feld für dieses Medikament. Neben der Osteoporosebehandlung, die durch geringes Vorkommen der Osteoporose in Gebieten mit hohem F-Gehalt angeregt wurde (4, 43), werden höhere Fluoriddosen heute auch schon erfolgreich zur Stabilisierung und Linderung der Schmerzen bei Plasmozytom (37) und für die symptomale Behandlung bei Skelettmetastasierungen osteolytischer Tumoren (6) angewandt. Bei der Behandlung der Osteodystrophia deformans (32, 37) treten jedoch erhebliche Differenzen in der Beurteilung der Fluoridtherapie auf.

Die klinische Anwendung von Fluor bei idiopathischen Osteoporoseerscheinungen stellt eine symptomatische Behandlung in Ermangelung einer ursächlichen Therapie dar.

Mit steigendem Alter erfährt der Knochenanbau (nach Abschluß der pubertären Wachstumsphase) bei etwa gleichbleibender aktiver Knochenresorption während des ganzen Lebens eine deutliche Reduktion. So liegt die entscheidende Volumendichte der Spongiosa mit 80 Jahren um rund 30 % niedriger als der Ausgangswert mit 20. Der Knochenanbau durch die

Osteoblasten nimmt infolge zahlenmäßiger Reduktion nach Abschluß der pubertären Wachstumsphase bis zur Altersgruppe um 50 ab, in welcher jedoch dann die Anbautätigkeit für die Dauer der nachfolgenden Dekade wieder leicht ansteigt.

Unterbleiben die kompensatorischen Umbauvorgänge in Form hypertrophischer Trabekel, die um das 50. Lebensjahr einsetzen um funktionell wichtige Trabekel zu verstärken, so führt das über den weiteren rapiden Substanzverlust zum für die Osteoporose charakteristischen atrophischen Spongiosagerüst (52).

Da im Alter nur noch eine kompensatorische Verstärkung der verbliebenen Knochentrabekel (sogenannter Strukturen I. Ordnung (31) ) erreicht werden kann, wird prinzipiell eine möglichst frühzeitige Behandlung in diesem Sinn gefordert.

Grundlage einer jeden Therapie muß eine exakte Diagnose sein. Insbesondere bei Osteoporose soll laut DAMBACHER (16) darauf geachtet werden, ob nicht eine sekundäre Osteoporose mit nachweisbarer Ursache vorliegt. KROKOWSKI (39) weist in diesem Zusammenhang besonders darauf hin, alle gefäßwirksamen Noxen auszuschalten, um die Möglichkeiten einer kausalen Therapie nicht zu verpassen.

Obwohl im klinischen Bereich keine Organschädigungen bei Fluoridbehandlung der Osteoporosen gefunden wurden, stellt BURKHARD (8) die Natriumfluorbehandlung als

interessante, aber nicht unbedenkliche Möglichkeit zur Hilfe in schweren Fällen dar. In diesem Zusammenhang erscheint mir ein Hinweis zur vorurteilslosen Betrachtungsmöglichkeit der folgenden Ausführungen wichtig. Die letale Dosis dürfte bei etwa 70 - 140 mg NaF/kg Körpergewicht (16) liegen. Im gleichen Zusammenhang gibt DAMBACHER als Kontraindikation Lebererkrankungen, Nierenerkrankungen und hämatologische Leiden, sowie Schwangerschaftsmöglichkeit an.

Die Unsicherheit ist hinsichtlich von Kontraindikationen noch relativ groß, so daß hier besser zur Vorsicht geraten werden muß. So schreibt GEDALIA (25) der Plazenta eine gewisse regulierende Rolle selbst bei höheren Dosen zu oder auch KIRCH (36) gibt in einem Antwortbrief auf DAMBACHER (16) zu verstehen, daß es keinen sicheren Hinweis heute dafür gibt, daß Fluoride bei Nierenerkrankungen in der Osteoporosetherapie nicht anzuwenden seien.

Aus dem Selbstverständnis der neuesten Erkenntnisse der Ursachenforschung der Osteoporose heraus, hat sich das Behandlungsschema etwas gewandelt. Neben der Basistherapie, wie Analgetika mit muskelrelaxierender Wirkung, Anabolika oder Östrogene zur Bekämpfung des Schmerzes werden heute (39) besonders physiotherapeutische Maßnahmen zusätzlich gefordert. Der Patient muß zur Aktivität angehalten werden, um die von TRUETA 1966 (72) erstmalig festgestellte Muskelpumpe zur besseren Durchblutung des Knochens wirksam werden zu lassen.

Dabei wird der Hinweis einer zur kurzen Ruhigstellung und wiederholter Stellungkorrekturen von KROKOWSKI (39) bei Knochenberletzungen besonders wichtig.

Als kausale Therapie sollte primär die Therapie des Grundleidens bei sekundärer Osteoporose erfolgen. Bei der sogenannten primären Osteoporose erscheint nach heutigem Stand einzig erfolgreich eine Natriumfluoridtherapie, auch als pathogenetische Therapie. Alle anderen Medikamente, auch das Wachstumshormon, sind in ihrem Therapieerfolg zumindest noch fraglich (59).

Eine Kombinationstherapie Natriumfluorid mit Calcium und/oder Vitamin D wird zwar von JOWSEY et al. (34) empfohlen, erscheint in unseren Breiten nach Auffassung der Überwiegenden Zahl der Wissenschaftler nicht nötig zu sein. Das gleiche gilt für die von REUTTER (57) geforderte zusätzliche Diät mit Eiweiß, calciumreicher Kost sowie Vitamin-D-Zufuhr. Die Tagesdosis von Natriumfluorid wird von JESSERER (31) und REUTTER (57) zwischen 40 und 100 mg pro Tag angegeben. AUGUSTIN (1) befürwortet 80 mg NaF und DAMBACHER (16) behandelt mit 100 mg NaF.

Die Behandlungsdauer beträgt im Mittel 12 - 15 Monate (17), jedoch wird nach spätestens einem Jahr eine "Standortbestimmung" (16) gefordert. Sie soll gewährleisten, daß das Stadium I der Knochenfluorose nach ROHOLM nicht überschritten wird. Diese erste Behandlungsperiode dauert bei einer Medikation mit 100 mg

NaF im Schnitt 2 Jahren (16). Danach wird ein Sistieren der Medikation für mindestens 1 Jahr gefordert oder zumindest eine Reduzierung auf 50 mg NaF (16, 37). Eventuell muß die sogenannte "Erhaltungsdosis" über längere Zeit erfolgen, da KROKOWSKI (38) in einer Langzeitbeobachtung nach Natriumfluoridbehandlung der Osteoporose erneute Osteoporose bei schon behandelten Patienten festgestellt hat.

Grundsätzlich wird während der Dauer der Therapie eine ständige Kontrolle des Fluoridspiegels im Blut gefordert. Schon innerhalb weniger Wochen ist subjektiv eine wesentliche Besserung zu erwarten (31), wobei im allgemeinen fast immer Beschwerdefreiheit erreicht werden kann (17). Dabei darf jedoch, wie Untersuchungen von J. INKOVAARA et al. (29) zeigen, nicht schon innerhalb der ersten 6 Monate mit einem Sistieren von Frakturen gerechnet werden. Eine deutliche Besserung im Sinne von Beschwerdefreiheit tritt binnen eines Jahres ein (3, 10, 11, 61, 62). Neben einer klinischen Besserung wird eine deutliche Abnahme neu auftretender Wirbelfrakturen durch REUTTER und OLAH (51, 57) festgestellt.

Laboratoriumsdiagnostisch gesehen tritt eine Verbesserung der Ca-Bilanz ein, die bei Osteoporose vor der Behandlung meist negativ verläuft (3, 5, 10, 61, 71, 55, 56). Bei einer Medikation von 100 mg NaF steigt dabei der Isotopen-Parameter des Ca-Ausstroms um 52 %, der des Ca-Einstroms aber um 90 % an (15). Dies bedeutet neben einer positiven Ca-Bilanz auch einen gesteigerten Knochenumbau.

Wie zu erwarten, geht auch die Urin Ca-Ausscheidung um 27,5 % zurück (3).

Als Ausdruck der Vermehrung der Osteoblasten wird nach 6 Monaten ein Anstieg der alkalischen Phosphatase verzeichnet. Sie steigt laut Angaben von DAMBACHER (15, 16) bei 100 mg NaF pro Tag im Mittel um 82 %.

Hydroxyprolin ist ein Parameter für eine Steigerung des Knochenumsatzes. Im Urin fand DAMBACHER (15) einen Anstieg desselben um 68 %.

Histologisch, mit Hilfe von Knochenbiopsien, findet man bei den untersuchten Patienten sowohl einen gesteigerten An- als auch Abbau (51), wobei der gesteigerte Knochenanbau durch verbreiterte Osteoidsäume dokumentiert wird, die jedoch nach Monaten unverkalkt sind (10), sowie eine ungefähr ab 6. Monat erhöhte Osteoblastenzahl, die von KUHLENCORDT (40), SCHENK (62) und THIEBAUD (71) bestätigt wird. Die entdeckte Mineralisationsstörung des neugebildeten Osteoids bleibt jedoch nicht bestehen, sondern es erfolgt nach den Erfahrungen von KROKOWSKI (39) und DAMBACHER (15) ein allmählicher Umbau zur Norm. SCHENK (62) glaubt, daß es sich hier lediglich um eine Verzögerung handelt, die sich jedoch auch durch zusätzliche Vitamin D und Calciumgaben nicht oder höchstens teilweise verhindern läßt (34). KUHLENCORDT (40) findet nach 350 Tagen Osteoporosebehandlung mit 35 mg NaF eine gute Mineralisation vor. REUTTER (70)

stellt nach längerer Behandlungszeit deutlich lamellierte Strukturen fest, findet jedoch eine vorübergehende Mineralisationsstörung bestätigt, die erst nach Jahren wieder verschwindet. KUHLENCORDT (41) bezeichnet die Störung als passagere Osteomalazie.

Eine Untersuchung an Lendenwirbelkörpern und Femursegmenten mit Hilfe von Bruchkraftversuchen an Leichen erbringt eine deutliche Steigerung gegenüber unbehandelten Osteoporosepatienten (18).

Die in den meisten Fällen erstmals mit Hilfe von Röntgenstrahlen diagnostizierte Osteoporose zeigt röntgenologisch nach frühestens 9 Monaten eine Zunahme der Knochendichte (5, 10, 11, 33). Die Angaben versucht KROKOWSKI (37) zu präzisieren. Er stellt fest, daß bei einer Behandlungszeit von unter 35 Wochen und einer Gesamtdosis von 25 mg NaF keine röntgenologisch faßbaren Skelettveränderungen festzustellen sind. Dies bedeutet, daß erst nach diesem Zeitpunkt mindestens 30 % mehr Knochenmasse vorhanden sind.

Ein noch unbewältigtes Gebiet bei hoher Fluormedikation stellen die Nebenwirkungen dar, die zwar behebbar sind, jedoch bislang meist nur durch Absetzen des Medikamentes. Mit ihnen ist jedoch häufig zu rechnen. Dabei treten vor allem gastrointestinale Unverträglichkeiten in Form von Übelkeit und Erbrechen in den Vordergrund (39). Dieses dürfte möglicherweise durch andere galenische Verpackung zu beheben sein.

Anders verhält es sich mit den gelegentlich auftretenden Schwellungen und Schmerzen in den Gelenken, besonders der Sprunggelenken, die nach Absetzen der Fluormedikation wieder verschwinden (39). Ihre Genese ist nach wie vor unklar, obwohl eine Zuordnung zur Fluormedikation klar gegeben ist (16). Sie wurden schon mit Wachstumsschmerzen der Kinder verglichen.

Auch eine Reduktion der Therapiedosis auf 50 mg zeigt (16), daß bei nunmehr geringerer Wirkung die gleiche Nebenwirkungsrate erreicht wird.

Die gelegentliche Gewichtsabnahme bei diesem Medikament wird bei anderen Klinikern nicht festgestellt (16, 29).

Die nur im Tierversuch bei ausgeprägten Fluorosen festgestellten Organveränderungen wie interstitielle Nephritis, Hyperparathyreoidismus oder kleinfollikuläre Hyperplasie der Schilddrüse können bei klinischen Fluoridbehandlungen selbst nach 1 - 4 Jahren Versuchsdauer nicht festgestellt werden (19). Auch in endemischen Fluorosegebieten, selbst bei schwersten chronischen Fluorosen, werden keine fluorbedingten Schäden an inneren Organen gefunden. NIXON (49) untersuchte den Zusammenhang zwischen Mortalität und Fluorgehalt des Trinkwassers, kann jedoch keine Korrelation feststellen. COON (12) allerdings meint in einem Leserbrief zu NIXON (49), eine größere Zahl von Herzerkrankungen feststellen zu müssen, die er mit einer verminderten Ca-Absorption glaubt erklären zu können.

## 2.2 Methoden der Fluoridbestimmung im Vollblut, Plasma oder Serum

Von den Hauptbestimmungsmethoden Gravimetrie, Spektroskopie, Potentiometrie und Gaschromatographie eignen sich auf Grund des geringen Gehaltes an Fluor im Blut bzw. Plasma oder Serum nur die Spektroskopie, Potentiometrie und die Gaschromatographie.

Fluoridbestimmungen des Blutes werden in der Literatur schon seit etwa 45 Jahren angegeben, jedoch konnten die Angaben, die anfangs nur im Milligrammbereich lagen (46, 77) und meist nur Sammelproben bestimmten, erst in den letzten Jahren in ihrer Genauigkeit soweit gesteigert werden, daß man von reellen Werten sprechen kann.

Zur Vorbereitung und Isolierung des Fluorids aus dem Blut werden vor allem zwei Verfahren angewandt.

Dies sind einmal heute Microdestillationsverfahren, wie sie zum Beispiel von SINGER und ARMSTRONG (64), SMITH (67) et al. oder SMITH und GARDNER 1959 bzw. WILLARD und WINTER (75) angegeben werden. Dabei erfolgt die Abtrennung des Fluorids beispielsweise mittels Wasserdampfdestillation.

Zum anderen erfüllen den gleichen Zweck Diffusionsmethoden, wie sie zum Beispiel von SINGER und ARMSTRONG (65), VENKATESWARLU et al. (73), TAVES (68) oder

FRY und TAVES 1970 (23) verwandt werden.

Jüngst fand VENKATESWARLU (73) eine neue Methode zur Bestimmung des ausschließlich nicht gebundenen Fluorids, indem er die Absorption von Fluoridionen an Calciumphosphat nutzt und damit die Erfassung ionisierten und ionisierbaren Fluorids erreichte.

Die spektroskopischen Bestimmungsmöglichkeiten unterteilen sich einmal in colorimetrische und fluoreszenzspektroskopische Bestimmungsverfahren.

Die colorimetrische Bestimmung nutzen eine Farbkomplexbildung von Stoffen mit Fluorid (27, 47, 66, 68, 73).

Eine Verbesserung der spektroskopischen Bestimmung gelang mit der Einführung von Fluoreszenzstoffen, die durch Fluorid gelöscht werden. WILLARD und HORTON (76) nutzen noch Farbstoffaluminiumkomplexe. TAVES (69) fand den Morin-Thorium-Komplex, bei dem sich in Verbindung mit Fluorid ein lineares Ansprechen im Sinne der Reduzierung der Fluoreszenz bis 50 % ergibt. Dieses Fluoreszenzreagenz ist sehr empfindlich und schnell stabil. Es übertrifft bei weitem die colorischen Bestimmungsgenauigkeiten.

In Verbindung mit diesen analytischen Verfahren werden oft zur Anreicherung zusätzlich Veraschungsverfahren empfohlen (66, 70). Zur Vermeidung von Verunreinigungen werden heute nur noch geschlossene Systeme verwandt (74).

Da die Werte für Fluoridkonzentrationen im Blut nach Veraschung sowohl bei elektrochemischen Bestimmungen als auch nach Diffusion bei Raumtemperatur (70, 74) höher liegen, kann durch sie das Konzept einer ionischen und nichtionischen Fraktion aus der Beobachtung der Bestimmung zwischen Veraschung und Nichtveraschung heraus bestätigt werden.

Das Vorhandensein von gebundenem und freiem Fluorid vermuten auch SINGER und ARMSTRONG (67) und FRY und TAVES (23) nach ihren Versuchen mit colorimetrischen und potentiometrischen Bestimmungen. FUCHS (24) widerspricht dieser Annahme aufgrund seiner Additionsversuche.

Statt der Veraschung geben COX und BACKER DIRKS (14) bei ihrer Methode der Fluoridbestimmung ein Anionenaustauschverfahren an.

Bei allen bisher beschriebenen Methoden besteht die Gefahr der Verunreinigung und Störanfälligkeit in besonderem Maße. Alle Methoden sind relativ aufwendig und so für klinische Zwecke unbrauchbar.

Die bestehenden direkten potentiometrischen Methoden der Messung sind entweder nicht hinreichend empfindlich für eine Analyse des Fluoridgehaltes im Serum (35) oder aber sie begegnen der Schwierigkeit, daß bei sehr niedrigen Konzentrationen die Elektroden nicht die Verhaltensweise zeigen, die von NERNST beschrieben wird. Deshalb seien keine verlässlichen

Kalibrierungskurven zur Auswertung in diesem Bereich zu erhalten (2, 30).

TAVES (68) stellt bei seinen Vergleichsversuchen fest, daß die Fluoridwerte bei der Fluoridelektrode um 0,011 ppm höher liegen als bei seiner Diffusionsmethode. Für viele Untersuchungen speziell im praktischen klinischen Bereich dürfte jedoch besonders die Fluoridelektrode ausreichend hinsichtlich ihrer Genauigkeit der Fluoridbestimmung sein.

Das wesentliche Element hier ist eine Lanthanfluorideinkristallmembran, die empfindlich gegenüber Änderungen der Fluoridionenaktivität ist. Dabei gehorcht die Elektrode der Nernst'schen Gleichung mit seiner Änderung von 59,16 mV gegenüber einem 10-fachen Anwachsen der Fluoridionenaktivität.

Für die Fluoridelektrode müssen laut LAMB (42) zwei Voraussetzungen erfüllt werden.

- 1.) Die Probe muß in eine entsprechende wässrige Lösung umgewandelt werden.
- 2.) Die bei Betrieb der Fluoridelektrode innewohnenden Störungen müssen ausgeschaltet werden.

Dabei ist es das Ziel, eine wässrige Lösung freier Fluoridionen zu erhalten. Das zweite Problem entspricht insbesondere der Entfernung der chemischen Interferenzen

der Elektrode: Eisen, Aluminium, Silizium und Hydroxylionen (63), sowie der Anpassung des Gesamtionenhintergrundes an einen Gesamtwert, sodaß der Aktivitätskoeffizient des Fluoridions annähernd konstant gehalten werden kann. Dabei ist nur in einer Lösung mit hoher Ionenstärke die Differenzierung zwischen Ionenaktivität und Konzentration für die praktische Anwendung gering, d. h. gleichzeitig, daß der Aktivitätskoeffizient des F-Ions damit annähernd konstant gehalten werden kann (42).

Seit der Einführung der Fluoridelektrode durch FRANT und ROSS 1966 (20) wird mit dieser Methode, die im Verhältnis zu allen bisher beschriebenen Methoden nur geringe Vorbehandlung der Proben verlangt, viel experimentiert. Das wichtigste Problem stellt dabei die Auffindung eines idealen Puffers dar, der die bekannten Probleme bewältigt, das heißt ein Puffer, der sowohl eine entsprechende Acidität erbringt, die nötig ist, um die interferierenden Hydroxylionen zu überdecken als auch die Bildung eines Hydroxylkomplexes verhindert und zusätzlich noch eine Verbindung enthält, die die vornehmlich die in saurem Bereich interferierenden Kationen  $Al^{+}$  und Fe binden kann (13). Weiterhin sollte der Puffer konzentriert sein, um den notwendigen Gesamtionenhintergrund zu schaffen und gleichzeitig den Verdünnungseffekt, wie er z. B. bei HALL (28) auftritt, gering zu halten (24).

LAMB et al. (42) erklärten bei der Besprechung der einzelnen Probleme unterschiedlicher ionenselektiver Elektroden, daß für jede Probeart individueller

TISAB gefunden werden muß.

Für Plasma verwendet FRY und TAVES (23) Acetatpuffer, jedoch ohne Angaben über Reproduzierbarkeit der Methode. Dies überprüft PATZ (53) und erzielt in dieser Arbeit recht gute Ergebnisse. Beide jedoch übersehen dabei die im sauren Bereich möglichen Komplexbildungen mit Kationen.

Speziell in Bezug auf Interferenzen anderer Ionen untersucht SELIG (63) mögliche TISAB-Lösungen von FRANT und ROSS (21), LIBERTI und MASCINI (44) und PETERS und LADD (54). Er stellt dabei fest, daß für  $\text{Fe}^{2+}$  LIBERTI und MASCINI's TISAB, für den unangenehmsten, weil starken Fluorid-Komplexbildner  $\text{Al}^{3+}$  derjenige von PETERS und LADD am geeignetsten erscheint, da er DCTA enthält und somit selbst große Mengen von Aluminium bilden kann. Der ursprünglich von FRANT und ROSS angegebene TISAB ist nur in Gegenwart großer Mengen  $\text{Mg}$ ,  $\text{Ca}$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{NO}_3$ - $\text{SO}_4^{2-}$  und  $\text{PO}_4$ -Ionen angebracht.

Die Einstellung des hohen Gesamtionenhintergrundes scheint mit allen TISABs zu gelingen, jedoch sollte man möglichst konzentrierte Lösungen verwenden, um den Bereich der geringeren Fluoridkonzentration zu vermeiden, in dem die Abweichung der Nernst'schen Gleichung sowieso Schwierigkeiten bereitet. Dadurch werden Schwierigkeiten insbesondere bei Leerwerten vermieden.

Die erste Möglichkeit der Bewältigung der Schwierigkeiten der Fluorelektrode bei geringen Fluorid-

konzentrationen ohne weitergehende Manipulationen schaffen GRØN et al. (26) mit ihrer Additionsmethode. Hierbei fügt er jeder Probe 0,5 - 1 µm Fluorid dem Speichel zu, um in den Bereich der Fluorelektrode zu kommen, der der Nernst'schen Formel entspricht. Diese Vorteile im Detail beschrieben MOODY et al. (47).

Desgleichen versuchen FUCHS et al. (24), die die sogenannte Singleknownadditions-Methode und die elektrode-slope-by-dilution - Methode verbinden und somit den Kalibrierungsschritt überflüssig machen. Der Nachteil dieser Methode liegt jedoch in der zu langen Einstellungszeit von 3 Proben pro Tag, bei niedrigen Konzentrationen.

Ein weiteres Problem bilden die langen Einstellungszeiten besonders im niedrigen Bereich. So benötigen HALL et al. (28) 80 Minuten je Probe Plasma, und VENKATESWARLU et al. (73) 2 Stunden.

Eine Verbesserung im Sinne der weiteren möglichen Verringerung von Probenmenge bringt VENKATESWARLU (74) mit seiner hanging-drop Elektrode, die weniger als 20 µl Serum benötigt und ebenfalls gute Rückgewinnungsergebnisse zeigt, wobei eine Ultrafiltration nicht nötig ist. Diese Elektrode eignet sich so besonders bei Tierexperimenten.

Relativ geringe Probenmanipulationen erfordert auch die von BOCK und SEMMLER (6) eingeführte Gaschromatographie.

Das Verfahren wird von FREESEN et al. (22) zur Bestimmung biologischen Materials mittels einer Lösung von Trimethylchlorsilan in Benzol selektiv ausgeschieden und anschließend gaschromatographisch bestimmt. Dabei können 0,01 - 10 µg Fluorid/ml bestimmt werden. Wie PATZ (53) feststellt, werden mit dieser Methode die gleichen Fluoridionen bestimmt, wie sie bei der Fluoridelektrode gemessen werden.

### 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Material und Methode

##### 3.1.1 Probanden und Versuchsdurchführung

Die Versuchewurden an freiwilligen, erwachsenen Probanden im Alter zwischen 20 und 28 Jahren durchgeführt.

Während die Blutproben während der Vorversuche von wechselnden Personen stammten, blieb die Gruppe während des Medikamentenversuches mit 24-Stunden-Profil geschlossen, in dem aus 8 Probanden 6 Personen ausgewählt wurden, die möglichst alle Daten während der gesamten Versuchsdauer geliefert hatten.

Versuchsdurchführung:

Die Untersuchung bestand aus zwei Vorversuchen, die drängende Fragen im Hinblick auf die zu wählenden Versuchsbedingungen des Medikamentenvergleiches beantworten sollten, sowie den drei zu vergleichenden Hauptversuchen.

##### 3.1.2 Versuchsreihen

###### 1. Versuchsreihe

Vergleich der Einstellzeit und Konstanz der durch die Fluoridelektrode mittels mV Meter angezeigten Werte bei unterschiedlich gewählten Puffern

Drei unterschiedliche Puffer wurden hinsichtlich ihrer Eignung bei der Bestimmung des Fluoridgehaltes im Blut des Menschen getestet. Nach entsprechenden Vorversuchen mit Fluorid-Standardproben in physiologischer Kochsalzlösung wurde an Hand einer einzigen Blutentnahme ein Vergleich der Einstellzeiten des mV Anzeigegerätes, sowie des Kurvenverlaufes bei folgenden Puffern angestellt:

1. mit Acetatpuffer
2. mit TISAB III von Orion
3. mit Acetat-TISAB-Gemisch 1 : 1

Die Blutentnahme erfolgte eine halbe Stunde nach Einnahme einer Dosis von 40 mg Ossin. Als Aufbereitungsform des Blutes wurde Plasma ohne Enteiweißung gewählt.

Die Kurven stellen Verlauf und Zeit dar, wie sie von einer sogenannten "kalten", d. h. noch nicht eingelaufenen Fluoridelektrode angegeben werden.

Zum Vergleich mit Angaben aus der Literatur (28, 73) bezüglich der benötigten Einstellzeiten wurden Daten aus dem Hauptversuch gewählt, indem wir entsprechend der angezeigten endgültigen mV-Angaben die entsprechenden Fluoridkonzentrationen der Eichkurve entnahmen und dann die jeweilige Dauer der Einstellzeit bei eingelaufener Elektrode entgegenstellten. Bei diesem Versuch wurde der Mischpuffer verwandt.

## 2. Versuchsreihe

### Vergleich der von der Fluoridelektrode angegebenen Konzentrationsangaben bei unterschiedlicher Vorbehandlung des Blutes

Bei diesem Versuch standen 8 Probanden zur Verfügung, von denen bei sechs Personen alle drei Werte erhalten werden konnten. Zwei Personen mußten wegen der bei der Aufbereitung entstandenen hämolytischen Seren entfallen. Das aus dem 1. Vorversuch als günstig befundene Puffergemisch wurde verwandt.

Das Blut wurde eine halbe Stunde nach Einnahme von 1 mg NaF in Form einer Tablette Zymafluor entnommen. Eine besondere diätetische Einstellung während des Vortages wurde unterlassen.

Die Fluoridkonzentration mit Hilfe der Fluoridelektrode wurde bestimmt

- a) bei Plasma ohne Enteiweißung,
- b) bei Plasma mit Enteiweißung,
- c) bei Serum.

## 3. Versuchsreihe

### 24-Stunden-Profil mit und ohne Medikamenteneinnahme

In insgesamt drei Versuchsreihen wurde versucht, die Ermittlung der Fluoridkonzentration im Plasma ohne Enteiweißung

- a) ohne Fluoridzufuhr
- b) bei einer Fluoridgabe von 18 mg Zymafluor
- c) bei einer Fluoridgabe von 40 mg Ossin

über jeweils 24 Stunden zu beobachten.

An dieser Untersuchung nahmen ebenfalls 8 Probanden teil, von denen jedoch nur von 6 Probanden Werte über die gesamte Versuchsdauer erhalten werden konnten.

Die Probanden erhielten zwar vor dem Versuch keine einheitliche Kost, enthielten sich jedoch am Vortag der jeweiligen Versuche fluoridreicher Nahrung. Es war ihnen untersagt, Fisch, insbesondere Seefisch, in größeren Mengen Milch oder Milchprodukte, fluoridreiche Mineralwässer, Hülsenfrüchte, Spinat oder schwarzen Tee zu sich zu nehmen.

Nach dem Zähneputzen sollten sie ihren Mund gut ausspülen, um eine zusätzliche Fluoridzufuhr über evtl. Zahnpasten zu vermeiden. Das Wasser des Münsterischen Gebietes ist fluoriddefizitär und hatte somit keinen Einfluß auf die Werte. Am Versuchstag und am Tag zuvor unterblieben irgendwelche anderen Medikamenteneinnahmen. Alle Probanden erhielten am Versuchstag selbst nach der 8.30 Uhr-Blutentnahme das gleiche Frühstück, bestehend aus Wurstbrötchen und Kaffee, aßen zwischen 12.00 und 13.00 Uhr zu Mittag und zwischen 18.00 und 19.00 Uhr zu Abend. Von einer stationären Aufnahme der Probanden während der Nacht konnte abgesehen werden. Damit konnte eine die klinische Beurteilung der Meßdaten verfälschende

Beeinträchtigung der Werte in ausreichender Weise verhindert werden.

Der Versuchstag selbst begann mit der Blutentnahme um 8.00 Uhr nüchtern. Sofort nach der jeweiligen Blutentnahme wurden gegebenenfalls die Tabletten eingenommen. Der erste und zweite Versuch konnte gleichzeitig als Kontrollversuch mit BÜTTNER et al. (9) verglichen werden. Die Blutentnahme erfolgten in den ersten beiden Versuchen jeweils um 8.00, 8.30, 9.00, 10.00, 12.00, 16.00, 20.00, 8.00 Uhr. Die Blutentnahmen um 8.00 Uhr sowie am folgenden Tag um 8.00 Uhr waren Nüchternproben. Eine derartige Einteilung der Probenentnahmen konnte aufgrund früherer Versuche von BÜTTNER (9) als sinnvoll erachtet werden.

Beim Ossinversuch mußten die Blutentnahmenszeiten aufgrund des überraschend andersartigen Verlaufs der Fluoridkurve nachträglich geändert werden. Es wurden zusätzlich Blutentnahmen an einem weiteren Tag um 13.00, 14.00, 15.00, 17.00 Uhr durchgeführt. Der Versuch wurde erst 2 Wochen später vervollständigt, um eine Kummulation des Fluorids zu vermeiden.

### 3.1.3 Fluoridanalytik

Bei der Fluoridbestimmung wurde die Kombinations-elektrode von Orion 96-09-00 der Firma Orion Research Incorporated verwandt, an die zur Millivolt-Messung ein Voltmeter Orion Digital pH/mV Meter (Modell 701)

derselben Firma angeschlossen war. Zur Einstellung des geeigneten pH wurde ein pH-Meter Marke pH-DIGI 510 der Wissenschaftl.-Techn. Werkstätten verwendet.

Prinzip der Methode:

Eine wichtige Berücksichtigung hinsichtlich der Anwendung ionenselektiver Elektroden bei Flüssigkeitsmessungen verlangt die Tatsache, daß ionenselektive Elektroden allgemein auf die Aktivität eines Ions und nicht auf die Konzentration antworten. Dies wird durch die Gleichung ausgedrückt

$$E\text{-Zelle} = E\text{-Ind.} - E\text{-Ref.} + E\text{-Lös.}$$

(E-Ind., E-Ref. und E-Lös. sind die Potentiale der Indikatorelektrode - hier der ionenselektiven Elektrode - der Referenzelektrode, sowie die Verbindung der jeweiligen Lösung).

In der Praxis vereinfacht sich die Gleichung, da E-Ref. konstant ist und E-Lös. entweder konstant oder unbedeutend sind (42). Nach Anwendung der Nernst'schen Gleichung zum Ausdruck von E-Ind. kann man schreiben:

$$E\text{-Zelle} = E\text{-Const.} + \frac{RT}{nF} \ln A$$

(A = Aktivität des Ions der Ladung n, auf das die Elektrode antwortet).

Die Aktivität des Ions kann wiederum ausgedrückt werden als Produkt der Konzentration, im hiesigen Fall des Fluoridions  $c_f$  und eines entsprechenden Aktivitätskoeffizienten  $\gamma$ .

$$A_f = \gamma \cdot c_f$$

Da der Fluoridionen-Aktivitätskoeffizient wiederum abhängig ist von der Gesamtionenstärke der zu messenden Lösung, ist zu berücksichtigen, daß infolge der Bildung von HF und  $\text{HF}_2$  in saurem Bereich nur oberhalb e. pH von 5 die Gleichung

$$\frac{c_f}{c_t} = 1$$

gilt. ( $c_f$  = Konzentration der freien Fluoridionen,  $c_t$  = Konzentration der gesamten Fluoridionen).

Bei niedrigerem pH wird der Wert kleiner als 1.

Mehrwertige Kationen, wie  $\text{Si}^{4+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  und  $\text{Fe}^{2+}$  binden in Abhängigkeit vom pH Fluoridionen, wobei die F-Bindung im basischen Bereich geringer ist, da die Kationen dann mit Hydroxylionen reagieren.

Da ionenselektive Elektroden auch auf andere Ionen als auf das spezielle Ion antworten, muß dies bei den Versuchsbedingungen berücksichtigt werden. So darf der pH nicht über 8,5 ansteigen (64), um die dann interferierenden Hydroxylionen auszuschalten.

Laut LAMB (42) ist die Probenpräparation mit Hilfe von Puffern der Schlüssel für die Störungen, die der Elektrode innewohnen. Speziell für Vorversuch 2 wurden zusätzlich die folgenden Puffer verwandt:

Puffer I: Acetatpuffer 0,5 M nach der Methode von FRY und TAVES (23) in Anlehnung an Arbeit von PATZ (53)

100 ml 10 M. Essigsäure

100 ml 5 ml Natriumhydroxyd

1 M NaOH wird solange hinzugefügt, bis ein pH von 4,75 eingestellt ist, dann auf 1 Liter mit Aqua dest. auffüllen.

Puffer II: TISAB III 94-09-11 der Firma

Orion Research Incorporated

500 ml Aqua dest.

57 ml Essigsäure

58 g Natriumchlorid

4 g DCTA (Triplex IV, Diaminocyclohexanetetraacetic acid)

(TISAB III ist ein Puffer, von FRANT und ROSS (21) 1968 angegeben, der folgendermaßen abgewandelt wurde: statt 0,3 g Natriumacetat zur  $Al^{3+}$  Komplexbildung: DCTA)

Der Puffer wird gerührt, bis die Bestandteile aufgelöst sind. Die Lösung wird anschließend im Wasserbad abgekühlt auf Zimmertemperatur. Dabei wird 5 M Natriumhydroxid unter dem Meßgerät hinzugefügt, bis der pH zwischen 5 und 5,5 liegt. Die Lösung wird dann in einer 1-l-Flasche bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

Für den Hauptversuch sowie für die beiden Vorversuche und die Eichkurve benutzten wird:

Puffer III: TISAB III und Acetatpuffer wurden im Verhältnis 1 : 1 gemischt. Dieser Puffer wurde anschließend zur Einstellung der Eichkurve sowie zur Bestimmung der Fluoridkonzentrationen im Blut verwandt.

Ansatz der Eichkurve:

Die Eichkurve wurde im Konzentrationsbereich zwischen 0,003 und 2,0 ppm Fluorid erstellt. Dabei wurde anstatt der Lösungsmittel Plasma mit Enteiweißung, Plasma ohne Enteiweißung beziehungsweise Serum physiologische Kochsalzlösung verwandt. Dies wurde nach Berücksichtigung der Arbeit von D.C.COWEL (13) der keinen Unterschied zwischen wässrigen bzw. Serum-Standard-Kurven fand und eigenen Untersuchungen ( Versuch II ), die nur geringe Unterschiede zwischen den Fluoridkonzentrationsangaben der verschiedenen Blutaufbereitungen ergaben, entschieden.

Zum Ansatz der Eichkurve wurden Polyäthylen-Flaschen verwandt, in denen die Stammlösungen auch gut verschlossen aufbewahrt wurden. Der Ansatz der Stammlösungen erfolgt nach Errechnung der Stammlösung

$$19000 \text{ ppm} = 41,99 \text{ gr/ltr.}$$

$$1000 \text{ ppm} = X$$

$$X = 2,21 \text{ gr/ltr.}$$

Bei der Durchführung wurden 0,3 ppm Fluoridkonzentration willkürlich mit 60 mV eingestellt. Diese Einstellung wurde täglich neu korrigiert.

Da die Fluoridelektrode nur logarithmisch anzeigt, wurde halblogarithmisches Papier gewählt, um eine Gerade als Eichkurve zu erhalten.

#### Durchführung:

Nach Herstellung der Stammlösung wurden Verdünnungsreihen hergestellt mit den in der Tabelle aufgeführten Größen. Nach Beifügen des Puffers in geringer Menge zur Vermeidung des Verdünnungseffektes wurden die Proben auf einen pH von 5 - 5,5 eingestellt und unter die Elektrode gestellt.

#### Ergebnisse der Eichkurve:

|           |       |
|-----------|-------|
| 2 ppm     | 5,2   |
| 1 ppm     | 23,5  |
| 0,3 ppm   | 60,0  |
| 0,1 ppm   | 90,2  |
| 0,05 ppm  | 108,7 |
| 0,02 ppm  | 126,9 |
| 0,01 ppm  | 142,2 |
| 0,008 ppm | 148,2 |
| 0,005 ppm | 158,0 |
| 0,004 ppm | 163,5 |
| 0,003 ppm | 175,6 |

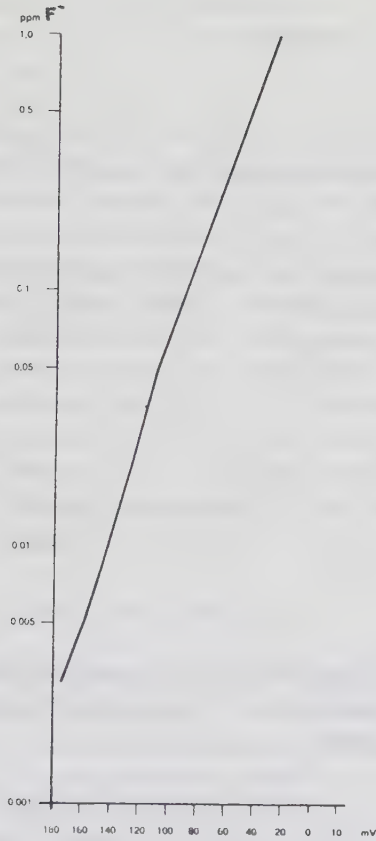


Abb. 1: Skizze der Eichkurve

### 3.1.4 Laboratoriumstechnische Versuchsdurchführung

#### Vorversuch 1: Puffertestung

Das Blut wurde mit Hilfe von Einmalspritzen aus Kunststoff den Venen entnommen. Dabei genügte uns die Verwendung von 12er Käülen. Anschließend wurde das Blut sofort in heparinisierte Röhrchen der Firma E. Webers, Kirchhellen, Grafenwald, Best. Nr. 160, umgefüllt. Dies vermied eine Verdünnung der Probe. Nach dem Zentrifugieren mit 3500 - 4000 Umdrehungen pro Minute wurde der Überstand mit Eppendorf Mikropipetten abpipettiert. Alle Proben wurden dann jeweils 2 ml - weise in Kunststoffbechern abgefüllt. Nach Zugabe von einem Tropfen Puffer je ml (entspricht etwa 50  $\mu$ /ml) Probe wurde unter dem pH-Meßgerät ein pH von etwa 5,5 eingestellt.

#### Vorversuch 2: Vergleich der Konzentrationsangaben der Fluoridelektrode bei unterschiedlicher Blutprobenaufbereitung

Nach Abnahme von 20 ml Blut je Proband wurden jeweils 10 ml in das Serumröhrchen, je 5 ml in heparinisierte Röhrchen gegeben.

#### A. Serumgewinnung

Das Blut wurde etwa eine halbe Stunde stehen gelassen,

bevor es nach vorsichtigem Rühren 10 Minuten bei 3500 - 4500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert wurde, um den Vorgang zu beschleunigen. Der Überstand wurde nun abpipettiert, und mit Puffergemisch eingestellt.

#### B. Gewinnung von Plasma mit Enteiweißung:

Nach der Ungerinnbarmachung durch heparinisierte Röhrchen erfolgte die Enteiweißung mittels 1,2 normaler Trichloressigsäure. Die Mengen sind aus der entsprechenden Tabelle 3 zu entnehmen.

#### C. Plasmagewinnung:

Sie erfolgte wie in Vorversuch 1 schon angegeben.

#### Hauptversuch: 24-Stunden-Profile

Die Blutentnahme, ebenso wie die Probenaufbereitung erfolgte wie in Vorversuch 1. Jedoch wurde das als günstig erwiesene Puffergemisch verwandt. Statt des einen Tropfen Puffergemisch wurden hier jedoch 50  $\mu$  mittels Eppendorfpipetten zugefügt. Der pH wurde zwischen 5,0 und 5,5 stabil gehalten.

#### Messung der Fluoridkonzentration:

Die Proben wurden unter die Fluoridsonden gegeben, wobei ein kunststoffummantelter Magnet auf einem Magnetrührer die Lösung ständig in Bewegung hielt.

Sowohl die Sonde als auch die Magnete wurden vor jedem neuen Gebrauch mit destilliertem Wasser abgespritzt und anschließend mit weichem Papier abgetupft (kein Abwischen, da Kratzer die Einstellzeit erheblich verlängerten). Der Sonde wurde täglich ein Tropfen Referenzlösung ausgedrückt und dieser danach jeweils wieder aufgefüllt. Die Einstellung der Elektrode wurde täglich mit Stammlösung zu Beginn jeweils überprüft und nötigenfalls korrigiert, so daß 0,3 ppm jeweils mit 60 mVolt durch das Gerät angegeben wurden. Die Elektrode selbst wurde über Nacht in niedriger ppm-Lösung aufgehängt, um am folgenden Tag die erste Einstellungszeit zu verringern.

Proben, die nicht sofort analysiert werden konnten, wurden nach pH-Einstellung und Pufferaddition tiefgefroren. Die Gefrierdauer betrug maximal 1 Woche.

Zusätzlich wurde dem mVoltmeter parallel eine graphische Aufzeichnung der Werte vorgenommen, um die Stabilität des Wertes überprüfen zu können. Dazu verwendeten wir ein Gerät der Firma Colora, Recorder 1100.

## 3.2 Ergebnisse

### 3.2.1 Überprüfung der Puffer

#### Vorversuch 1: Puffertestung

Die gestellte Aufgabe der Überprüfung der Wirksamkeit fluoridhaltiger Medikamente mittels Darstellung von Tagesprofilen unter gleichzeitiger besonderer Berücksichtigung praktischer klinischer Aspekte warf als dringende Frage zunächst die Erprobung eines geeigneten Puffers für die Proben bei der als klinisch interessant erscheinenden Fluoridbestimmung mittels Fluoridelektrode auf.

In diesem Zusammenhang werden zunächst zwei mögliche Puffer herangezogen und deren Eignung durch Vergleich der Einstellgeschwindigkeiten beurteilt.

1. TISAB III
2. Acetatpuffer

Infolge der keineswegs befriedigenden Ergebnisse wurde nach mehreren Versuchen ein weiterer Puffer als geeignet gefunden.

#### 3. Puffergemisch

Um die klinische Verwertbarkeit der Puffer vergleichen zu können, wurde als willkürliche Festlegung die jeweils ungünstigsten, bzw. lang dauernsten Versuchsbedingungen gewählt. Dies waren die Einstellungszeit der Elektrode jeweils nach längerer Versuchspause zu Beginn des Arbeitstages. Die

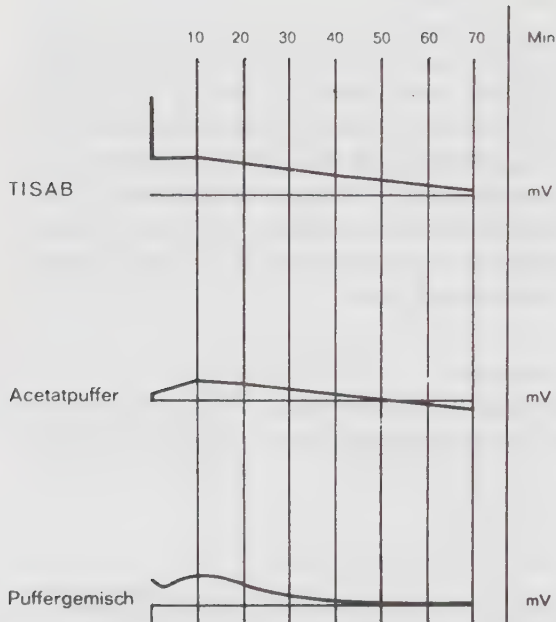


Abb. 2: Die in der Abbildung 2 dargestellten Kurvenverläufe zeigen untereinander die Kurvenverläufe der verschiedenen Puffer bei derselben Probe. Dabei zeigt sich beim Puffergemisch nach etwa 40 Minuten ein konstanter Wert, der zu diesem Zeitpunkt von den anderen Puffern nicht erreicht wird.

Ergebnisse dieses Versuches mit jeweils "kalter" Elektrode bei geringer Konzentration in der Probe (Plasma ohne Enteiweißung) sind durch die graphische Darstellung der angegebenen mVolt- Werte/ Zeit wiedergegeben.

Um einen Vergleich mit den in der Literatur angegebenen Zeiten anstellen zu können, sind allerdings Werte anzugeben, die nach dem jeweiligen Einlaufen der Elektrode erreicht werden.

In der Tabelle 2 werden zu diesem Zweck 38 Einstellungszeiten der Fluoridelektrode nach Zugabe von Mischpuffer angegeben

Tabelle 2:

| 0,004 ppm<br>Min. | 0,02 ppm<br>Min. | 0,2 ppm<br>Min. |
|-------------------|------------------|-----------------|
| 10                | 3                | 2               |
| 4                 | 5                | 3               |
| 10                | 6                | 3               |
| 2                 | 3                | 11              |
| 5                 | 8                | 10              |
| 5                 | 7                | 4               |
| 6                 | 5                | 10              |
| 4                 | 10               | 7               |
| 10                | 7                |                 |
| 4                 | 5                |                 |
| 6.0               | 5,9              | 6,25            |

Die Tabelle 2 zeigt eine verhältnismäßig niedrige Einstellzeit von im Mittel 6,05 Minuten, die beim Vergleich mit den von COWEI (13) angegebenen Werten nach TISAB III - Puffergabe eine weitere Geschwindigkeitssteigerung darstellen.

### 3.2.2 Vergleich von Probenaufbereitungsarten

Vorversuch 2: Vergleich der Konzentrationsangaben bei unterschiedlicher Blutprobenaufbereitung

Um die Möglichkeit eines Vergleiches von Literaturangaben hinsichtlich Fluoridkonzentrationen auf der Grundlage von Serum, Plasma oder Plasma mit Enteiweißung zu erhalten, mußte ein weiterer Versuch angesetzt werden, der die drei Probenaufbereitungsarten unter gleichen Bedingungen testet, und so die durch die Fluoridelektrode angegebenen Konzentrationsangaben vergleicht.

Bei diesem Versuch wurde dreißig Minuten nach Aufnahme von einem Milligramm Zymafluor das Blut den Venen entnommen. Gestartet wurde wieder mit acht Probanden. Als Puffer diente das Puffergemisch. Einen Überblick über die Probenaufbereitung gibt Tabelle 3.

Alle Proben wurden dabei auf einen pH von etwa 5,1 eingestellt. Der Probenmenge von 2 ml wurde Trichloressigsäure zur Enteiweißung beigegeben.

Tabelle 3:                      b = enteiweißt              c = Serum

| Vorbehandlung        |      |         | Ch3COOH | NaOH               |          |
|----------------------|------|---------|---------|--------------------|----------|
| pH-Ausgangs-<br>wert |      | Gemisch | Säure   | Lauge              | endg. pH |
| <hr/>                |      |         |         |                    |          |
| I a.                 | 8,08 | 300 μ   | 1 Tr.   | --                 | 5,03     |
| b.                   | 1,1  | --      | 3 "     | 1 ml               | 5,04     |
| c.                   | 8,4  | 500 μ   | 2 "     | --                 | 5,08     |
| II a.                | 8,24 | 350 μ   | 1 "     | --                 | 5,02     |
| b.                   | 1,15 | --      | --      | 0,5 ml             | 5,1      |
| c.                   | 7,95 | 500 μ   | 2 "     | --                 | 5,06     |
| III a.               | 7,91 | 250 μ   | 1 "     | --                 | 5,03     |
| b.                   | 1,22 | --      | 1 "     | 0,5 ml             | 5,08     |
| c.                   | 7,1  | 500 μ   | 2 "     | --                 | 5,07     |
| IV a.                | 7,99 | 300 μ   | 1 "     | --                 | 5,07     |
| b.                   | 1,16 | --      | 1 "     | 0,5 ml             | 5,16     |
| c.                   | 7,87 | 500 μ   | 1 "     | --                 | 5,08     |
| V a.                 | 7,94 | 250 μ   | 2 "     | --                 | 5,01     |
| b.                   | 1,17 | --      | --      | 0,4 ml<br>+ 10 Tr. | 5,13     |
| c.                   | 8,02 | 500 μ   | 2 "     | --                 | 5,08     |
| VI a.                | 8,11 | 250 μ   | 2 "     | --                 | 5,1      |
| b.                   | 1,17 | --      | --      | 0,4 ml<br>+ 5 Tr.  | 5,15     |
| c.                   | 7,93 | 500 μ   | 1       | --                 | 5,01     |
| <hr/>                |      |         |         |                    |          |

Die Tabelle 4 zeigt die Anzeige der Elektrode in Millivolt.

Tabelle 4:

Vorversuch II

|                        | Plasma o.<br>Entei-<br>weißung | Plasma m.<br>Entei-<br>weißung | Serum  | Diff. |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------|-------|
| I                      | 111,4                          | 114,6                          | 112,P  | 3 mV  |
| II                     | 114,0                          | 113,6                          | 115,2  | 2 mV  |
| III                    | 111,2                          | 114,5                          | 113,8  | 3 mV  |
| IV                     | 120,7                          | 118,1                          | 114,1  | 6 mV  |
| V                      | 109,6                          | 111,8                          | 113,6  | 4 mV  |
| VI                     | 104,8                          | 109,5                          | 108,6  | 5 mV  |
| arithmetisches Mittel: |                                |                                |        |       |
|                        | 111,95                         | 113,68                         | 112,88 |       |

Die erhaltenen Werte ergaben nur höchst geringe Differenzen innerhalb der unterschiedlichen Aufbereitungsarten.

Tabelle 5 zeigt die entsprechenden Konzentrationsunterschiede der Mittelwerte der Proben mit den jeweiligen maximalen Abweichungen in ppm  $F^-$ .

Tabelle 5:

| I     | II    | III               |
|-------|-------|-------------------|
| 0,028 | 0,03  | 0,035             |
| 0,039 | 0,037 | 0,038 Mittelwerte |
| 0,051 | 0,044 | 0,045             |

Es wiederholt sich eine gewisse Konstanz, so daß eine etwas höhere Konzentrationsangabe bei der Plasma-  
probe erreicht zu werden scheint.

### 3.2.3 Tagesprofile der $F^-$ -Konzentration im Plasma

Hauptversuch:

#### 1. 24-Stunden-Profil ohne Medikamenteneinnahme

Das sowohl als Kontrollversuch als auch als Basiskonzentrationsverlauf der Fluoridkonzentration gedachte 24-Stunden-Profil ohne äußere Fluoridzufuhr durch Tabletten bringt die in Tabelle 6 aufgeführten Ergebnisse.

Tabelle 6 : - Ohne Medikamenteneinnahme -

| Zeit | 8.00  | 8.30  | 9.00  | 10.00 | 12.00 | 16.00  | 20.00 | 8.00  |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| I    | 169,3 | 164,1 | 172,9 | 171,2 | 165,5 | 167,9  | 160,8 | 171,1 |
| II   | 168,4 | 170,8 | 171,4 | 163,3 | 163,2 | 171,1  | 161,8 | 158,0 |
| III  | 159,2 | 174,0 | 170,1 | 170,5 | 172,1 | 165,4  | 157,3 | 176,1 |
| IV   | 165,7 | 164,2 | 162,6 | 160,9 | 163,2 | 139,4* | 154,0 | 150,5 |
| V    | 161,9 | 166,0 | 169,1 | 164,5 | 160,7 | 159,8  | 165,2 | 168,8 |
| VI   | 172,0 | 168,7 | 161,7 | 159,3 | 164,8 | 163,8  | 159,3 | 169,4 |

Ø mV      166,1      168,0      168,0      164,95      164,9      161,2\*\*      159,7      165,7

\*\* Ohne IV / 165,6

Diese mit anderen 24-Stunden-Versuchen von BÜTTNER (9) vergleichbaren Ergebnisse weisen nahezu identische Ergebnisse auf.

Da entsprechend den Versuchsbedingungen lediglich auf hohe Fluoridzufuhr durch entsprechende Nahrungsmittel verzichtet worden war, konnte man an Hand der sich ergebenden Werte und durch Anamnese bei der betreffenden Person selbst keine Verfehlungen herausfiltrieren, wie sie besonders deutlich bei IV um 16.00 Uhr begangen wurden. Die vergleichsweise hohe Fluoridkonzentration von 0,013 ppm im Blut zu diesem Zeitpunkt wurde durch eine Vernachlässigung der Auflage erreicht, nach Verwendung fluoridhaltiger Zahnpasten den Mund besonders gründlich wieder auszuspülen. Geringere Abweichungen der gleichen Genese sind beispielsweise bei III, 8.00 Uhr und IV, 8.00 Uhr des folgenden Tages zu finden.

Die Abbildung 3 zeigt, wie schon durch BÜTTNER festgestellt, die nur geringen Schwankungen der Mittelwerte im Verlauf des 24-Stunden-Profils, die bei der linearen Auftragung in Zeichnung 6 kaum mehr erkennbar sind.

Dennoch ist, wie schon erwähnt, eine gewisse Steigerung der Fluoridkonzentration zu bestimmten Zeiten zu beobachten. So erscheint der etwas höhere Wert jeweils zu Zeiten, an denen durch Zähneputzen oder Nahrungszufuhr ein leichter Anstieg zumindest in Erwägung gezogen werden muß: so der Anstieg vor 8.00 Uhr morgens, sowie nach 12.00 Uhr mittags sowie vor dem 20.00 Uhr-Wert am Abend.

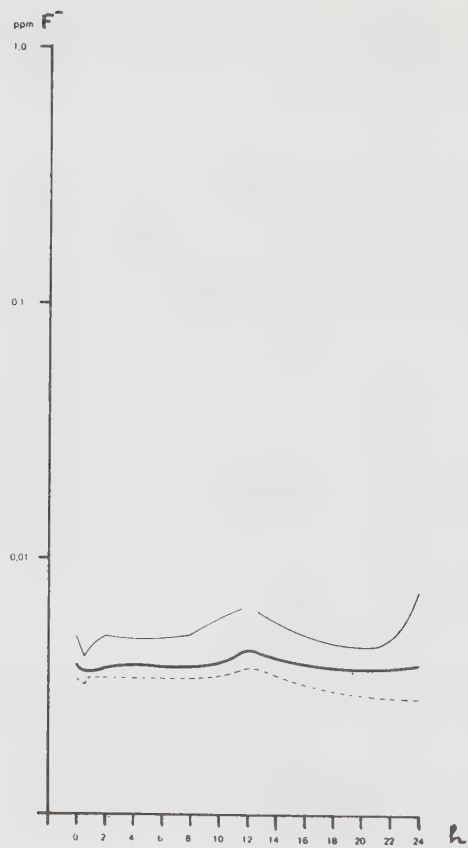


Abb. 3:

Dennoch bleibt die geringe Schwankungsbreite von 0,0037 bis 0,0043 ppm Mittelwert unter der bei BÜTTNER (9) festgestellten (0,025 - 0,045).

Die jeweiligen Schwankungsbreiten innerhalb der jeweiligen Zeit sind aus Tabelle 7 ersichtlich, wobei der Extremwert von 139,4 = 0,012 ppm ausgeklammert wurde (IV, 16.00 Uhr).

Tabelle 7:

Konzentrationsangaben mit jeweiligen Schwankungsbreiten in ppm F<sup>-</sup>

| 8.00   | 8.30   | 9.00   | 10.00  |
|--------|--------|--------|--------|
| 0,0034 | 0,0032 | 0,0034 | 0,0034 |
| 0,0037 | 0,0036 | 0,0036 | 0,0038 |
| 0,005  | 0,004  | 0,0045 | 0,005  |
| 12.00  | 16.00  | 20.00  | 8.00   |
| 0,0034 | 0,0034 | 0,0037 | 0,0028 |
| 0,0038 | 0,0037 | 0,0045 | 0,0038 |
| 0,0049 | 0,0049 | 0,0065 | 0,0075 |

2. 24-Stunden-Profil nach Einnahme von 18 mg  
Zymafluor

Dieser Versuch ist als Vergleichsversuch für das 24-Stunden-Profil nach der entsprechenden Dosis Fluorid in Form von Ossin-Tabletten gedacht. Er wird wie dieser mit den gleichen Personen unter den gleichen Versuchsbedingungen vollzogen, jedoch brauchen hier keine zusätzlichen Zeiten nachgeholt werden, da sich der erwartete Kurvenverlauf (BÜTTNER, 9) bestätigt. Wie aus Tabelle 8 zu entnehmen ist, ergibt sich schon kurz nach der 8.00 Uhr Nüchternentnahme und der sich danach sofort anschließenden Tabletteneinnahme eine beträchtliche Fluoridkonzentrationssteigerung im Blut.

Der Wert III - 8.00 Uhr dürfte ein fehlerhafter Wert sein und wurde somit bei der Auswertung der Tabelle übergangen. Insbesondere wegen klinischer Aspekte dürfte ein differentes Verhalten der Fluoridkonzentration bei den verschiedenen Personen interessant sein.

Wie schon in Tabelle 7 festgestellt, dürften sich die um 0,011 ppm differierenden Anfangswerte der Tabelle 9 wieder auf Meßfehler oder Fehler beim Zähneputzen oder ähnlichem zurückführen lassen. Die um 0,19 ppm differierenden Werte von 8.30 Uhr dürften in der unterschiedlichen Resorptionsgeschwindigkeit liegen. Diese großen Unterschiede konnten um 9.00 Uhr schon nicht mehr festgestellt werden, wie aus der Tabelle 9 oder Abbildung 4 zu ersehen ist.

Tabelle 8:  
- 18 mg Zymafluor -

| Zeit   | 8.30  | 8.30 | 9.00  | 10.00 | 12.00 | 16.00  | 20.00 | 8.00  |
|--------|-------|------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| I      | 137,5 | 52,1 | 62,8  | 65,8  | 81,0  | 104,5  | 120,8 | 133,9 |
| II     | 161,9 | 70,3 | 56,9  | 71,4  | 87,5  | 106,4  | 122,3 | 116,5 |
| III    | 93,0  | 52,3 | 58,2  | 74,7  | 90,7  | 108,9  | 146,3 | 118,6 |
| IV     | 161,7 | 64,2 | 60,8  | 74,3  | 87,4  | 106,8  | 119,1 | 129,6 |
| V      | 172,4 | 72,5 | 63,5  | 75,8  | 91,9  | 109,6  | 119,4 | 130,2 |
| VI     | 139,2 | 64,6 | 63,6  | 71,7  | 84,3  | 110,3  | 121,5 | 131,6 |
| Ø mV * | 154,5 | 62,6 | 60,96 | 72,3  | 87,1  | 107,75 | 124,9 | 126,7 |

\*  
ohne III

Tabelle 9: Konzentrationsangaben mit jeweiligen Schwankungsbreiten  
in ppm F<sup>-</sup>

| 8.00  | 8.30 | 9.00 | 10.00 | 12.00 | 16.00 | 20.00  | 8.00  |
|-------|------|------|-------|-------|-------|--------|-------|
| 0,003 | 0,2  | 0,26 | 0,17  | 0,095 | 0,043 | 0,009  | 0,015 |
| 0,006 | 0,28 | 0,29 | 0,183 | 0,105 | 0,046 | 0,0235 | 0,021 |
| 0,014 | 0,39 | 0,34 | 0,23  | 0,13  | 0,053 | 0,03   | 0,033 |

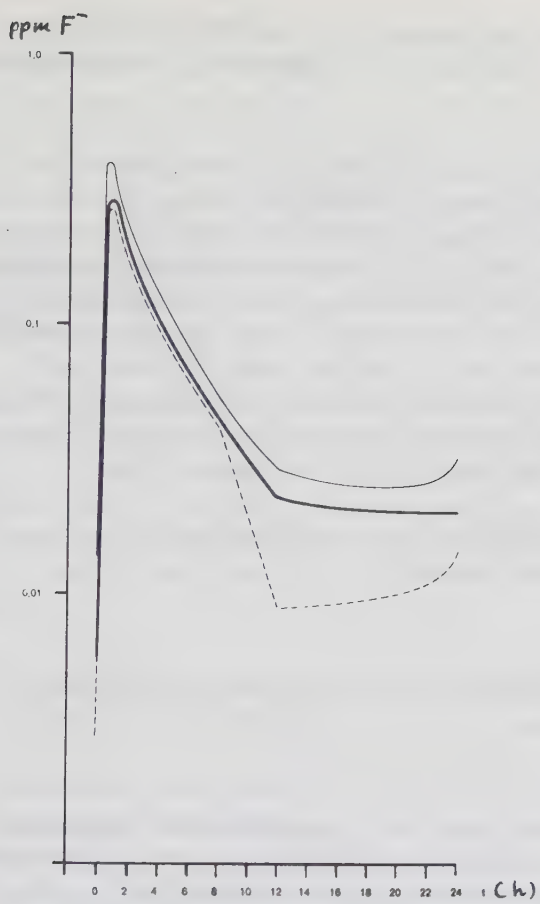


Abb. 4:

Insgesamt ist jedoch bei allen Testpersonen ein einheitlicher Konzentrationsverlauf festzustellen.

In Zeichnung 4 beobachtet man einen steilen Anstieg der Fluoridkonzentration sowie eine nur verzögert abfallende Eliminationskurve. Mit der Unterstellung, daß Fluorid aus der Blutbahn E-funktionsförmig eliminiert werde, was bei der halblogarithmischen Auszeichnungsweise einer Geraden entspräche, so scheint nach 11.00 Uhr, also 3 Stunden nach Fluorideinnahme, keine Resorption mehr stattzufinden. Ein insgesamt erhöhter Fluoridspiegel scheint jedoch noch nach 24 Stunden zu bestehen.

Die E-funktionsförmige Elimination läßt sich gut in Zeichnung 6 erkennen.

### 3. 24-Stunden-Profil nach Einnahme von 40 mg Ossin

Der Versuch soll die Überprüfung der Wirksamkeit des Medikamentes Ossin erbringen, das als Fluorid in Retardform mit gleichem Anspruch auf Erfolg, jedoch ohne die üblichen Nebenerscheinungen die Osteoporose wirksam bekämpfen soll. Um diesem Anspruch gerecht zu werden, muß sich die Fluoridkonzentration mit der Einnahme von 18 mg Natriumfluorid vergleichen lassen.

Zunächst bedarf es einer Betrachtung der Einzelergebnisse. Der Versuch mußte teilweise wiederholt

werden, da sich erst nach dem ersten Versuchstag überraschenderweise herausstellte, daß das erwartete Maximum von Fluorid im Blut sich zwischen 12.00 und 16.00 Uhr einstellte. Aus diesem Grunde wurde nach weiteren 14 Tagen der Versuch wiederholt. Da sich aus menschlichen Gründen eine entsprechend hohe Anzahl von Blutentnahmen bei den gleichen Personen nicht durchführen ließ, beschränkten wir uns auf 4 Punktionen, die die bisherigen Werte ergänzen sollten.

Da erfahrungsgemäß die Normfluoridkonzentrationen schwankten, wurde jeweils die Differenz zwischen dem 16.00 Uhr - Wert des ersten Versuchstages und dem Mittelwert zwischen 15.00 und 17.00 Uhr - Wert des zweiten Versuchstages der gleichen Person auf die einzelnen Werte des zweiten Versuchstages addiert.

Das Ergebnis dieser mathematischen Angleichung ist aus Tabelle 12 zu ersehen.

Die maximalen Differenzen der jeweiligen Zeit sind aus Tabelle 13 ersichtlich.

Die graphische Darstellung der Fluoridkonzentration im Blut (Abbildung 5) zeigt nach einer zu vernachlässigenden Spitze um 8.30 Uhr, die in geringem Ausmaß deutlicher in der Normalaufzeichnung (Abbildung 6) zu ersehen ist, einen steilen Anstieg, der sich etwa 3 Stunden nach Versuchsbeginn einstellt. Dieses Maximum tritt erst nach 5,5 Stunden ein. Die Eliminationskurve zeigt zwei grundsätzlich verschiedene

Tabelle 10: - 40 mg Ossin -

| Zeit | 8.00  | 8.30  | 9.00  | 10.00 | 12.00 | 16.00 | 20.00 | 2.00  |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| I    | 131,4 | 128,3 | 133,1 | 137,5 | 121,0 | 112,6 | 120,4 | 136,8 |
| II   | 130,3 | 129,0 | 125,9 | 115,0 | 109,9 | 75,1  | 98,4  | 127,2 |
| III  | 133,8 | 129,5 | 133,3 | 137,0 | 138,3 | 125,0 | 135,2 | 146,6 |
| IV   | 134,7 | 129,4 | 127,8 | 137,2 | 118,6 | 114,6 | 126,0 | 138,8 |
| V    | 135,8 | 129,4 | 132,3 | 138,6 | 127,0 | 111,6 | 112,4 | 125,7 |
| VI   | 133,1 | 129,8 | 131,9 | 134,2 | 125,8 | 116,6 | 128,7 | 145,3 |
| Ø mV | 133,2 | 129,2 | 130,4 | 133,2 | 123,4 | 109,2 | 120,2 | 136,7 |

Tabelle 11:

| Zeit | 13.00 | 14.00 | 15.00 | 17.00 |
|------|-------|-------|-------|-------|
| I    | 98,8  | 94,9  | 102,4 | 121,2 |
| II   | 98,8  | 97,5  | 102,5 | 115,4 |
| III  | 99,8  | 97,2  | 105,9 | 104,0 |
| IV   | 101,8 | 97,5  | 105,3 | 109,4 |
| V    | 99,8  | 98,8  | 105,1 | 118,2 |
| VI   | 93,4  | 95,5  | 102,7 | 109,9 |
| Ø mV | 98,7  | 96,9  | 104   | 113   |

Tabelle 12: Werte nach 40 mg Ossin

|      | 8.00  | 8.30  | 9.00  | 10.00 | 12.00 | 13.00 | 14.00 | 15.00 | 16.00 | 17.00 | 20.00 | 8.00  |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| I.   | 131,4 | 128,3 | 133,1 | 137,5 | 121,0 | 102,4 | 99,1  | 106,7 | 112,6 | 121,2 | 120,4 | 136,8 |
| II.  | 130,9 | 129,0 | 125,9 | 115,0 | 109,9 | 98,8  | 97,5  | 102,5 | 108,5 | 115,4 | 98,7  | 127,2 |
| III. | 133,8 | 129,5 | 133,3 | 137,0 | 138,3 | 101,5 | 101,1 | 120,0 | 125,0 | 131,0 | 135,2 | 146,6 |
| IV.  | 134,7 | 129,4 | 127,8 | 137,2 | 118,6 | 107,3 | 103,4 | 113,0 | 114,6 | 115,6 | 126,0 | 138,8 |
| V.   | 135,8 | 129,4 | 132,3 | 138,6 | 127,0 | 101,7 | 101,0 | 107,4 | 111,6 | 118,2 | 112,4 | 125,7 |
| VI.  | 133,1 | 129,8 | 131,9 | 134,2 | 125,8 | 103,1 | 104,2 | 113,8 | 116,6 | 120,2 | 124,5 | 145,3 |
| Ø MV | 133,2 | 129,2 | 130,7 | 133,2 | 123,4 | 102,5 | 101,0 | 110,6 | 114,8 | 120,3 | 124,5 | 136,7 |

Tabelle 13: Konzentrationsangaben mit jeweiligen Schwankungsbreiten in ppm F<sup>-</sup>

| 8.00  | 8.30  | 9.00  | 10.00 | 12.00 | 13.00 | 14.00 | 15.00 | 16.00 | 17.00 | 20.00 | 8.00  |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 0,015 | 0,019 | 0,016 | 0,014 | 0,013 | 0,05  | 0,055 | 0,028 | 0,023 | 0,017 | 0,014 | 0,009 |
| 0,016 | 0,02  | 0,019 | 0,016 | 0,025 | 0,058 | 0,06  | 0,042 | 0,035 | 0,028 | 0,023 | 0,014 |
| 0,018 | 0,020 | 0,022 | 0,033 | 0,043 | 0,065 | 0,07  | 0,056 | 0,05  | 0,034 | 0,04  | 0,019 |

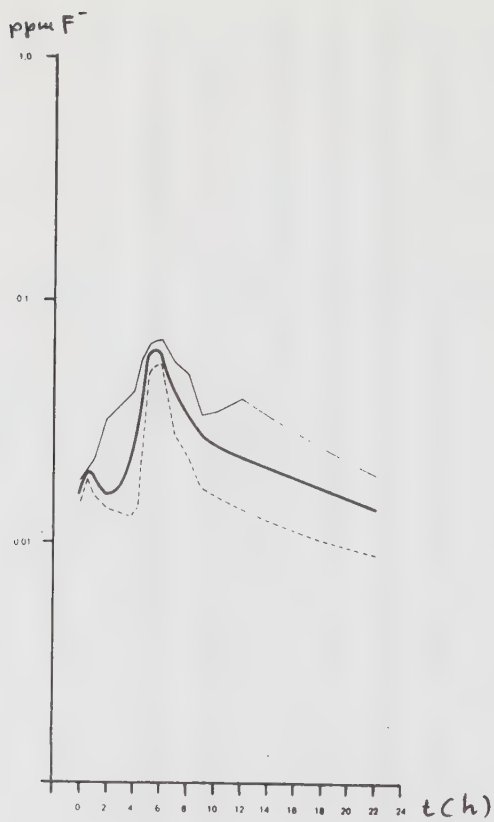


Abb. 5

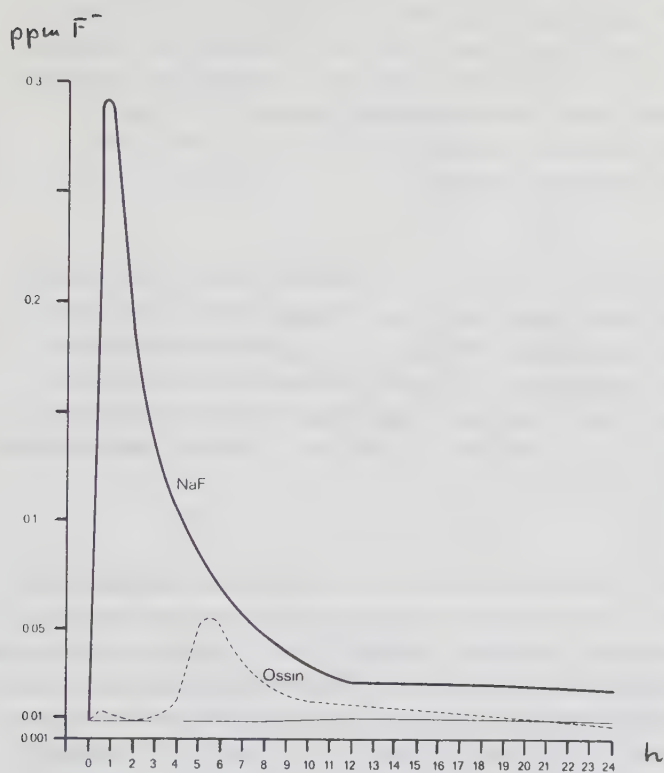


Abb. 6

Verläufe. Die erste Eliminationsgerade liegt etwa zwischen 14.30 und 16.00 Uhr und zeigt die gleiche Steigung wie die erste Gerade bei dem 18 mg - Natriumfluoridversuch, während die zweite Gerade mit flacherem Winkel ähnlich wie beim Vergleichsversuch von 20.00 Uhr beginnt, jedoch weit steiler verläuft.

Auch beim Vergleich der Resorptionsteile der Kurvenverläufe ergibt sich ein entscheidender Unterschied. Im vorliegenden Versuch ist die Resorptionsmenge pro Zeiteinheit geringer als beim Versuch mit der nicht retardierten Fluoridgabe. Auch dieses Merkmal zeigt sich deutlich in der linearen Aufzeichnung 6.

Um einen Überblick über die Menge des resorbierten Fluorids bei den unterschiedlichen Fluoridbestimmungsformen zu erhalten, bedarf es der linearen Darstellung in Abbildung 6. Da eine schematische Errechnung nur schwer möglich ist, wird die Menge des resorbierten Fluorids stellvertretend mittels der des Integrals der einzelnen Kurven abzüglich der Nüchternkurve angegeben. Die bei der Natriumfluoridaufnahme durch Zymafluor erreichte Aufnahme bedeckt hier eine Fläche von etwa  $122,5 \text{ cm}^2$ , während die Natriumfluoridaufnahme durch Ossin lediglich eine Fläche von  $18,5 \text{ cm}^2$  einschließt.

Bei der Betrachtung der Ausgangswerte erscheint ebenfalls interessant, daß bei Ossinaufnahme der Fluoridspiegel schon nach etwa 18 bis 19 Stunden

einen unveränderten Fluoridspiegel erreicht, während nach Zymafluoraufnahme offensichtlich noch lange nach diesem vergleichsweise effektvolleren Fluoridstoß ein erhöhtes Fluoridniveau bestehen bleibt.

#### 4. DISKUSSION

Die in dem Grundthema dieser Arbeit anvisierten Ziele erforderten zunächst eine Aufgliederung der Literaturübersicht in zwei von einander getrennte Abschnitte.

Der erste Teil über die klinische Anwendung von Fluor sollte zunächst insbesondere darüber Auskunft geben, welche klinisch relevanten und durch den praktischen Gebrauch vorgegebenen Natriumfluoriddosen dieser Arbeit als Grundlage dienen sollten. Weiterhin mußte dieser Teil eine Rechtfertigung der Versuche direkt an menschlichen Probanden erbringen. Der zwangsweise sich anschließende Fragekomplex mußte sich allgemein mit den möglichen Fluoridbestimmungsmethoden befassen, die für die klinischen Versuche in Frage kamen. Aus beiden Literaturkomplexen ergaben sich eine Reihe von offenen Fragen, von denen die entscheidenden in Bezug auf das Thema: "Vergleich von Fluoridpräparaten zur Therapie der Osteoporose" vorab geklärt werden mußten.

Ein Teil dieser noch ungeklärten Fragen wurde durch zwei Vorversuche teilweise geklärt.

Vorweg ergibt sich durch die graphische Darstellung der erhaltenen Eichkurve der direkten potentiometrischen Messung des Fluorids in physiologischer Kochsalzlösung ein Beweis der Genauigkeit der verwandten Kombinationselektrode.

Es bestätigt sich die nach der Nernst'schen Gleichung erwartete Gerade bei halblogarithmischer Auftragung der Ergebnisse (Abb. 1) auch bei den relativ geringen Fluoridkonzentrationen. Die eigentlich konsequente Aufstellung der Eichkurve mittels Plasmaproben wurde auf Grund der Arbeit von COWELL (13) überflüssig, die keinen Unterschied beim Erstellen von Standardkurven mit wässriger Lösung oder Serum fand.

Das Thema des ersten Vorversuches ergab sich aus der Forderung von LAMB (42), der die Meinung vertritt, daß für jede Probeart bei Verwendung ionenselektiver Elektroden ein individueller Puffer gefunden werden muß. Unter Berücksichtigung insbesondere der Arbeiten von SELIG (63) und PATZ (53) ergibt sich bei der Fülle von möglichen Interferenzen, die mit den Proben biologischen Materials vorgegeben sind, die Frage nach einem entsprechenden guten Puffer. So stellte sich einmal die Frage nach der Absolutheit der erhaltenen Werte bei unterschiedlicher Pufferbeigabe, sowie andererseits die Forderung, auch hier möglichst kurze Einstellzeiten der Fluoridelektrode zu erreichen.

Da die Elektroden bei niedrigen Konzentrationen nicht die von Nernst beschriebene Verhaltensweise zeigen, würden bei den hier vorzunehmenden Versuchen mit zu erwartenden oft relativ niedrigen Fluoridwerten keine Verdünnungen mit Puffer in Frage kommen, wie sie HALL (28) oder COWELL (13) vornehmen. Es waren so nur konzentrierte Pufferzugaben möglich, die ermöglichten, den Verdünnungseffekt zu vernachlässigen.

Wie die Ergebnisse (Abb. 2) des Versuches zeigen, ergibt sich bei allen verwandten Puffern im Endergebnis im großen und ganzen ein gleicher Endwert bei denselben Proben. Die Schwankungen innerhalb der angezeigten Werte waren bei dem TISAB III von Orion gering, beim reinen Acetatpuffer am größten. Insbesondere der Acetatpuffer benötigte eine verhältnismäßig lange Einstellzeit und schwankende Fluoridwerte mit allerdings geringen Differenzen.

Einen erheblichen Fortschritt bezüglich der Einstellzeit auf einen konstanten Wert brachte ein Puffergemisch von TISAB III und Acetatpuffer im Verhältnis 1:1 (Abb. 2). Mit der Zugabe von 50  $\mu$  dieses Puffergemisches je Milliliter Probe wurde eine raschere Konstanz der Millivoltanzeige der Elektrode erreicht, wie aus Abbildung 2 zu ersehen ist.

Um einen Vergleich mit Literaturangaben unter laboratoriumstechnischen Bedingungen zu erhalten, wurde unter Tabelle 2 ein Querschnitt von Einstellzeiten bei verschiedenen ppm-Werten im Plasma festgehalten, die diejenigen von HALL (28) oder VENKATESWARLU (73) weit unterboten und selbst diejenigen von COWELL (13), der mit einer Verdünnung von 1 Teil Puffer zu 1 Teil Serum arbeitete und so Konzentrationen nur indirekt ermitteln konnte, um 1/3 unterboten.

Eventuell läßt sich in Bezug auf die laboratoriumstechnisch zu fordernde Schnelligkeit der zu messenden Proben auch durch die Änderung des einzustellenden pH-Wertes noch Fortschritte erzielen, obwohl die

Variationen durch die Spezifität der Elektrode im nur sauren Bereich eingeschränkt sind.

Der zweite Vorversuch sollte eine Antwort darauf bringen, inwieweit eine unterschiedliche Probenaufbereitung des Blutes Einfluß auf die von der Fluoridelektrode angegebenen Werte erbringt. Ausgehend von den Untersuchungen COWELLS (13), der beim Erstellen von Eichkurven mit Serum keine Resorptionfreier Fluoridionen bei Verwendung von TISAB-Puffer feststellen konnte und eigenen Versuchen, die das gefundene Puffergemisch durch die schnelle Einstellzeit dem TISAB von Orion überlegen zeigten, erforderten die unterschiedlichen Literaturangaben, die den normalen Fluoridgehalt des Blutes bei jeweils unterschiedlichen Blutaufbereitungsarten angaben, einen direkten Vergleich.

Die Elektrode, die die vorher unbekannte Blutprobe der Probanden nach unterschiedlichen Aufbereitungsarten untersuchte, zeigte nur äußerst geringe Unterschiede innerhalb der einzelnen Probanden, die unter die möglichen und vertretbaren minimalen Ungenauigkeiten der Methode einzuordnen sind (Tabelle 4 und Tabelle 5).

Daraus läßt sich die Folgerung ziehen, daß einmal die jeweiligen Literaturangaben bei unterschiedlichen Aufbereitungsarten ohne Einschränkung zu vergleichen und andererseits für den klinischen Betrieb bei Verwendung der Fluoridelektrode die am wenigsten aufwendige Blutprobenaufbereitung ohne Bedenken anzuwenden ist.

Zur Beurteilung der Wirksamkeit des Medikamentes Ossin muß ein 24-Stundenprofil herangezogen werden, das die Fluoridkonzentration im Blut widerspiegelt. Das Ziel der Natriumfluoridbehandlung der Osteoporose, durch Einlagerung von Fluor in den Apatit eine positive Calcium-Bilanz zu erhalten, ist nur dann zu erreichen, wenn der Fluoridspiegel im Blut sowohl auf ein gewisses Niveau, als auch während eines entsprechend langen Zeitabschnittes auf diesem gehalten werden kann.

Der normale Fluoridspiegel in unserem Lande scheint diese Vorbeugung nicht gewährleisten zu können, wie aus der Literaturübersicht zu ersehen ist.

Das sowohl als Kontrollversuch, als auch als Basis-konzentrationsverlauf gedachte 24-Stundenprofil ohne Medikamenteneinnahme bestätigt die schon von BÜTTNER und HENSCHLER auf dem European Symposium on Calcified Tissues 1973 vorgestellten Ergebnisse, wobei jedoch ein noch geringerer Basisfluoridspiegel festgestellt wird (Tabelle 3, Abb. 3).

Zur deutlicheren Darstellung der relativen Konstanz des Fluoridspiegels während des gesamten Tagesverlaufes muß jedoch die lineare Auftragung der Abbildung 6 herangezogen werden, die einen deutlichen Vergleich mit den folgenden Medikamentenversuchen zuläßt. Die geringen maximalen Abweichungen, die in Tabelle 7 und Abb. 3 zum Ausdruck kommen, demonstrieren sowohl die in Tabelle 6 ersichtlichen geringen individuellen Schwankungen der einzelnen Probanden, als auch die Zuverlässigkeit der Fluoridelektrode bei vorgegebenen Bedingungen.

Die in einer Ossintablette enthaltenden 40 mg NaF entsprechen einer Fluoridmenge von 18 mg, die in 18 mg Zymafluor enthalten sind.

Bei Betrachtung der Werte des 24-Stundenprofils nach Einnahme von 18 mg Zymafluor ergibt sich sowohl aus der Tabelle 8 wie aus der entsprechenden Abbildung 4 ein erwarteter steiler Anstieg der Fluoridkonzentration auf nahezu 0,3 ppm, innerhalb der ersten halben Stunde, der jedoch schon nach einer Stunde den Zenit überschritten hat und dann relativ steil auf ein Niveau um etwa 0,025 ppm binnen 10 Stunden abfällt; ein Wert, der noch beträchtlich über dem des Startes liegt und sich dann auch relativ stabil hält.

Wie auf dieser halblogarithmischen Aufzeichnung zu ersehen ist, scheint etwa 4 Stunden nach Einnahme die Resorption des Fluorids im Blut abgeschlossen zu sein, um dann nur noch resorbiert oder ausgeschieden zu werden. Nach 12 Stunden scheint sich dann ein Gleichgewicht zwischen Abgabe aus dem Knochen oder anderen Organen und der Ausscheidung einzupendeln, so daß noch sehr lange ein hohes Niveau im Blut erhalten bleibt.

Wie aus Tabelle 9 und Abbildung 4 ersichtlich, scheint der Wert der Versuchspersonen III um 20.00 Uhr ein Meßfehler zu sein.

Die geringen Schwankungsbreiten aus Tabelle 9 ergeben sowohl für die einzelnen Probanden als auch für die Gesamtzahl der Probanden ein einheitliches Bild des Versuchsverlaufes.

In der letzten Versuchsreihe mit dem retardierenden Ossin ergab sich, wie aus Tabelle 12 und Abb. 5 ersichtlich, ein für uns erstaunliches Bild.

Der erst sehr späte Anstieg der Fluoridkonzentration überraschte ebenso, wie die nur verhältnismäßig niedrigen Spitzenwerte von 0,065 ppm. Die eigentliche, etwa erst nach drei Stunden beginnende Resorption der sich erst im Dünndarm auflösenden Kapsel verlief verhältnismäßig langsam. Nach weiteren zwei Stunden schien, ebenso wie im Zymafluor-Versuch, die Resorption aus dem Darm abgeschlossen zu sein, so daß nur noch die Absorption bzw. Ausscheidung erfolgte.

Im Gegensatz zu der Zymafluorgabe von 18 mg NaF konnte jedoch ein erhöhtes Niveau dann nicht mehr festgestellt werden, sondern es erfolgte ein totales Absinken des Fluoridspiegels auf das Anfangsniveau. Dies scheint darauf hinzuweisen, daß eine entsprechende Fluorideinlagerung in das Knochengewebe noch nicht erfolgte und der benötigte Fluoridspiegel nicht lange genug die für die Therapie erforderliche Höhe erreicht zu haben scheint.

Insgesamt zeigt das Verhalten der jeweils einzelnen Probanden laut Tabelle 12 ein gleiches Bild, das jedoch von einer Person (II) minimal durchbrochen wird. Es wird hier eine etwas bessere Gesamtresorption mit früherem Beginn und höherer Ausbeute angezeigt.

Dennoch bleibt, wie aus Tabelle 13 und Abb. 5 zu entnehmen, die Schwankungsbreite auch hier sehr gering und zeigt bei allen Probanden das gleiche Reaktionsbild.

Deutlicher noch zeigt sich der Unterschied der Resorption der beiden identischen Fluoridmengen in der linearen Abbildung 6. Hier wird insbesondere die binnen 24 Stunden aufgenommene Menge Fluorids deutlich, die sich etwa Ossin : Zymafluor wie fast 1 : 12 verhält.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Nach Durchführung der Vorversuche lassen sich folgende Aussagen formulieren:

1. Die bislang verwandten Puffer zur Bestimmung des Fluoridgehaltes im Plasma sind noch nicht ausgereift.
2. Durch das verwandte Puffergemisch konnte die Bestimmungszeit erheblich gesenkt werden.
3. Die Aufbereitungsform des Blutes hat keinen Einfluß auf die Genauigkeit der Fluoridangabe der Elektrode.

Die Durchführung der 24-Stundenprofile von Fluorid ergaben, daß das Medikament Ossin nur sehr unvollständig resorbiert wird und nach einer einzelnen Einnahme kaum Wirkung erzielen dürfte. Die einmalige Gabe von 18 mg NaF bewirkt eine recht angehobene Fluoridkonzentration im Blut über 24 Stunden hinaus, so daß auf Grund dieser Tatsache eine Revidierung der empfohlenen einmaligen Gabe von 100 mg NaF pro Tag auf die vielleicht mit weniger unangenehmen Nebenwirkungen hervorrufenden kleineren Dosen bei 2 - 3 maliger Einnahme sinnvoller erscheint. Das Medikament Ossin jedenfalls scheint die von ihm erwartete Wirkung nicht erzielen zu können.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS

1. AUGUSTIN, M.:

Die Osteoporose

Therapie der Gegenwart, 114 (1975) 244

2. BARNES, F.W., RUNCIE, I.:

Potentiometric method for the determination  
of inorganic fluoride in biological material

J. Clin. Pathol. 21 (1968) 668

3. BERNSTEIN, D.S., GURI, C.D., COHEN, P.,

COLLINS, J.J., TAMVATIOPOULAS, S.:

The use of sodium fluoride in metabolic bone  
disease

J. clin. Invest. 42 (1963) 1

4. BERNSTEIN, D., SADOWSKI, B., HEGSTED, D.M.,

GURI, C.D., STARE, F.:

Prevalence of osteoporosis in high and low fluoride  
areas in North Dakota

J. Amer. Med. Ass. 198 (1966) 499

5. BERNSTEIN, D.S., COHEN, P.:

Use of sodium fluoride in the treatment of  
osteoporosis

J. clin. Endocr. 27 (1967) 197

6. BIERMANN, H.R.:

Fluorides in neoplastic disease

Postgrad. Med. 51 (1972) 166

7. BÖRNER, W., MOLL, E., RAUH, E. HEICIS, G.:  
Ein empfindliches Meßverfahren zur radiologischen  
Bestimmung der Mineralsalzdichte in Spongiosa  
und Kompakta des Fingerknochens  
Z. Os Lap. Grenzgeb. 108 (1970) 503
8. BURKHARD, R.:  
Diagnose und Therapie der Osteoporose  
Münch. Med. Wschr. 115 (1973) 1915
9. BÜTTNER, W., HENSCHLER, D., PATZ, J.:  
Kariesprophylaxe durch Fluorideinnahme  
Dtsch. med. Wschr. 98 (1973) 751
10. CASS, J.D., PERKIN, P., NYE, W., WATERHOUSE, C.,  
TERRY, R.:  
New bone formation in osteoporosis following  
treatment with Sodium fluoride  
Arch. intern. Med. 118 (1966) 111
11. COHEN, P., GARDNER, F.H.:  
Induction of skeletal fluorosis in two common  
demineralising disorders  
J. Amer. med. Ass. 195 (1966) 962
12. COOK, H.A.:  
Mortality and natural fluoride content of drinking  
water  
Leserbrief zu Nixon 74  
Lancet (1974/II) 1275
13. DAVID, C., COWEL:  
The determination of fluoride ion concentration  
in biological fluids and in serum and urine of  
fluoride-treated patients with Paget's disease  
and osteoporosis  
Medical Laboratory Technology 32 (1975) 73

14. COX, F.H., BACKER DIRKS, O.:

The determination of fluoride in blood serum  
Caries Res. 2 (1968) 69

15. DAMBACHER, M.A., HAAS, H.G.:

Grundlagen der Osteoporosebehandlung mit Fluorid  
Dtsch. med. Wschr. 101 (1976) 502

16. DAMBACHER, M.A., HAAS, H.G.:

Therapie der Osteoporose mit Fluorid  
Dtsch. med. Wschr. 101 (1976) 504

17. EGGERT, A., HULAND, H.:

Fluoridbehandlung bei Osteoporose  
Therapie der Gegenwart (1973) 564

18. FRANKE, J., RUNGE, H., FENGLER, F., REMPEL, H.:

Ergänzung zum Thema Osteoporose  
Z. Orthopäd. 111 (1973) 221

19. FRANKE, J., REMPEL, H., HEINRICHS, H.J.:

Die Natriumfluoridbehandlung der Osteoporose  
Therapiewoche 47 (1973) 3987

20. FRANT, M.S., ROSS jr., J.W.:

Elektrode for Sensing Fluoride Ion Activity  
in Solution  
Science 154 (1966) 1553

21. FRANT, M.S., ROSS, J.W.:

Use of a total ionic strength adjustment buffer  
for electrode determination of fluoride in water  
supplies  
Analyt. chemistry 40 (1968) 1169

22. FREESEN, J.A., COX, F. H., WITTER, M.I.:  
The determination of fluoride in biological  
materials by means of gas chromatography  
Pharm. Weekblad 103 (1968) 909
23. FRY, B.W., TAVES, D.R.:  
Serum fluoride analysis with the fluoride electrode  
J. Lab. clin. Med. 75 (1970) 1020
24. FUCHS, C., DOM, D., FUCHS, C.A., HENNING, H.V.,  
MC INTOSH, C., SCHELER, F.:  
Fluoride determination in plasma by ion selective  
electrodes: A Simplified method for the clinical  
laboratory  
Clinic chim. Acta, 1975
25. GEDALIA, I., BRZENZINSKI, A., ZUHERMAN, H.,  
MAYERSDORF, A.:  
Placental transfer of fluoride in the human at  
low and high fluoride intake  
J. dent. Res. 43 (1964) 669
26. GRØN, P., MC CANN, H.G., BRUDEVOLD, F.:  
The direct determination of fluoride in the  
human saliva by a fluoride electrode  
Fluoride levels in partid saliva after ingestion  
of single dosis of sodium fluoride  
Arch. oral Biol. 13 (1968) 203
27. HALL, R.J.:  
The spectrophometric determination of submicrogram  
amounts of fluorine in biological specimens  
Analyt. 88 (1963) 76

28. HALL, L.L., SMITH, F.A., DE LOPEZ, G.H.,  
GARDNER, D.E.:

Direct Potentiometric Determination of Total  
Ionic Fluoride in biological Fluids  
Clinical Chemistry, Vol. 18, Nr. 12 (1972) 1455

29. INKOVAARA, J., HEIKINHEIMO, K., JARVINEN, K.,  
KASURINEN, U., HANHIJARVI, H., IISALO, E.:

Prophylactic Fluoride Treatment and Aged Bones  
British Medical Journal 3 (1975) 73

30. JARDILLIER, J.C., DESMET, G.:

Study of serum fluoride levels using a specific  
electrode technique  
Clin. Chim. Acta 47 (1973) 357

31. JESSERER, H.:

Die Fluoridtherapie der Osteoporose  
Münch. med. Wschr. 115, Nr. 51/52 (1973) 2307

32. JESSERER, H.:

Osteodystrophia deformans (Morbus Paget)  
Therapiewoche 26 (1976) 6234

33. JOWSEY, I., SCHENK, R.K., REUTTER, F.W.:

Some results of the effect of fluoride on bone  
tissue in osteoporosis  
J. clin. Endocr. 28 (1968) 869

34. JOWSEY, J., RIGGS, B.L., KELLY, P.J.,  
HOFFMANN, D.L.;

Effect of combined therapy with radium fluoride,  
Vitamin D, and calcium in osteoporosis  
Amer. J. Med. 53 (1972) 43

35. KE, P.I., REGIER, L.W., POWER, H.E.:  
Determination of fluoride in biological samples  
by a nonfusion distillation and ion selective  
membrane electrode method  
Anal. Chem. 41 (1969) 1081

36. KIRCH:  
Therapie der Osteoporose mit Fluorid  
Dtsch. Med. Wschr. (1976) 872

37. KROKOWSKI, E., FALCK, I., KRASEL, A.:  
Rekalzifizierende Therapie der Osteoporose  
Therapie der Gegenwart 111 (1972) 1396

38. KROKOWSKI, E.:  
Langzeitbeobachtung nach Natriumfluoridbehandlung  
der Osteoporose  
Münch. med. Wschr. 116 (1974) 1845

39. KROKOWSKI, E., FRICKE, M.:  
Sozialmedizinische Bedeutung und restabilisierende  
Therapie der Osteoporose  
Münch. med. Wschr. 117 (1975) Nr. 44, 1775

40. KUHLENCORDT, F., KRUSE, H.P., LOZANO-TONKIN, C.,  
ECKERMEIER, L.:  
Therapie der Osteoporose mit Natriumfluorid  
Dtsch. med. Wschr. 94 (1969) 1730

41. KUHLENCORDT, F.:  
Aktuelle Probleme der Klinik und Therapie der  
Osteomalazie  
Therapiewoche 26 (1976) 6228

42. LAMB, R.E., NATUSCH, D.F.S., O'REILLY, J.,  
WATKINS, N.:

Laboratory Experiments with Ion selectiv electrodes  
Journal of Chemical Education 50 (1973) 432

43. LEONE, N.C., STEVENSON, C.A., HIBBISH, T.F.,  
SORMAN, M.C.:

A roentgenographical study of human population  
exposed to high fluoride domestic water:

a 10-year study

Amer. J. Roentgenol. 74 (1955) 874

44. LIBERTI, A., MASCINI, M.:

Anion determination with ion selective electrodes  
usin Gran's plots. Application to Fluoride

Analyt. Chemistry 41 (1969) 676

45. LUTWAK, L., WHEDON, G.D.:

Osteoporeses

DM (April 1973)

46. MACHLE, W., SCOTT, E.W.:

The effect of the inhalation of hydrogen fluoride  
II. Fluoride storage following exposure to subletal  
concentration.

J. industr. Hyg. 17 (1935) 230

47. MC GREGIAN, S.:

Rapid spectrophometric determination of fluoride  
with zirkonium-eriochrome cyanine R lake

Anal. Chem. 26 (1954) 1161

48. MOODY, G.I., THOMAS, I.D.R.:

Selective Ion sensitive Electrodes

Marrow, Watford England (1971)

49. NIXON, J.M., CARPENTER, R.G.:

Mortality in areas containing natural fluoride  
in their water supplies, taking account of  
socio-environmental factors and water hardness.

Lancet 1974 / II, 1068

50. NORDIN, B.E.C.:

Metabolic Bone and Stone disease

Livingston, London (1973)

51. OLAH, A.J., REUTTER, F.W., SCHENK, R.K.:

Histological bone changes after long-term treatment  
with sodium fluoride

In: Kuhlencordt, F., Kruse, H.P. (eds).:

Calcium - Metabolism, Bone and Metabolic Bone  
Diseases

Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1975)

52. OLAH, A. J.:

Bau und Funktion des Knochens

Physiologische und pathologische Aspekte

Therapiewoche 26 (1976) 6194

53. PATZ, J.:

Pharmakokinetische Untersuchungen zum Fluorid-  
stoffwechsel

Habilitationsschrift Würzburg (1974)

54. PETERS, M.A., LADD, D.M.:

Determination of Fluoride in oxides with the  
fluoride ion activity electrode

Talanta 18 (1971) 655

55. REUTTER, F.W.:

Zur Therapie der Osteoporose

Praxis 56 (1967) 1276

56. REUTTER, F.W., SIEBENMANN, R., PARAGOLA, M.:

Fluoride in Osteoporosis

Fluoride in Medicine, edited by Th. Vischer,

Huber, Bern (1970)

57. REUTTER, F.W., OLAH, A.J.:

Langzeitbehandlung der Osteoporose mit Natrium-  
Fluorid und Vitamin D

Helv. med. Acta 37 (1974) 361

58. REUTTER, F.W.:

Diagnose und Therapie der Osteoporose

Münch. med. Wschr. 116 (1974) 2217

59. REUTTER, F.W.:

Aktuelle Aspekte der Klinik und Therapie der  
Osteoporose

Therapiewoche 26 (1976) 6212

60. RICH, C., ENSINCK:

Effect of sodium fluoride on calcium metabolism  
of human beings

Nature (London) 191 (1961) 184

61. RICH, C., INVANOVICH, P.:

Response to sodium fluoride in severe primary  
osteoporosis

Amer. inter. Med. 63 (1965) 1069

62. SCHENK, R.K., MERZ, W.A., REUTTER, F.W.:  
Fluoride in Osteoporosis  
H. Huber, Bern, Stuttgart, Wien (1970) 153
63. SELIG, W.:  
Microdetermination of fluoride using Gran's  
Plots  
Microchimica Acta (1973) 87
64. SINGER, L., ARMSTRONG, W.D.:  
Determination of fluoride, Procedure based upon  
diffusion of hydrogen fluoride  
Anal. Chem. 26 (1954) 904
65. SINGER, L., ARMSTRONG, W.D.:  
Determination of fluoride, Procedure based upon  
diffusion of hydrogen fluoride  
Anal. Biochem. 10 (1965) 494
66. SINGER, L., ARMSTRONG, W.D.:  
Total fluoride content of human serum  
Arch. oral Biol. 14 (1969) 1343
67. SMITH, F.A., GARDNER, D.E., HODGE, H.C.:  
Investigation on the metabolisms of fluoride.  
II. Fluoride content of blood and urine as a  
function of the fluorine in drinking water  
J. dent. Res. 29 (1950) 596
68. TAVES, D.R.:  
Normal human serum fluoride concentration  
Nature 211 (1966) 192

69. TAVES, D.R.:

Determination of submicromolar concentrations  
of fluoride in biological samples  
Talanta 15 (1968) 1015

70. TAVES, D.R.:

Evidence, that there are two forms of fluoride  
in human serum  
Nature, 217 (1968) 1050

71. THIEBAUD, M., ZENDER, R., COURVOISIER, B.,  
BAND, C.A., JACOT, C.:

The action of fluoride in diffuse bone atrophies  
Fluoride in Medicine  
H. Huber, Bern, Stuttgart, Wien (1970) 136

72. TRUETA, J.:

The role of vessels in osteogenesis  
J. Bone, Jt. Surg. 45 B (1963) 402

73. VENKATESWARLU, P., SINGER, L., ARMSTRONG, W.D.:

Determination of ionic (plus ionizable) fluoride  
in biological fluids.  
Procedure based on absorption of fluoride ion on  
calcium phosphate  
Anal. Bioch. 42 (1971) 350

74. VENKATESWARLU, P.:

A micro method for direct determination of ionic  
fluoride in body fluids with the hanging drop  
fluoride electrode  
Clinica Chimica Acta 59 (1975) 277

75. WILLARD, H.H., WINTER, O.B.:

Volumetric method of determination of fluorine  
Industr. Eng. Chem. Anal. Ed. 5 (1933) 7

76. WILLARD, H.H., HORTON, C.A.:

Fluorometric Determinations of Traces of  
Fluoride

Anal. Chem. 24 (1952) 862

77. WILKIE, J.:

Two cases of fluorine osteosclerosis

Brit. J. Radiol. 13 (1940) 213

## LEBENS LAUF

Ich, Hans-Jürgen Schwaab, wurde am 10. 2. 1948 als erstes von fünf Kindern des Zahnarztes Dr. Hans Schwaab und dessen Ehefrau Rita, geborene Holzheimer, in Schweinfurt geboren.

Von 1954 bis 1958 besuchte ich in meinem Heimatort Sennfeld die Volksschule. Im Herbst 1958 trat ich in die Oberrealschule in Schweinfurt ein. Infolge einer längeren Erkrankung wiederholte ich die 7. Klasse freiwillig. Mit Wiederholung der 10. Klasse wechselte ich in das Landschulheim Brückenau und besuchte von dort aus das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium derselben Stadt. 1969 schloß ich meinen schulischen Werdegang mit dem Abitur ab.

Im Wintersemester 1969/1970 studierte ich Biologie an der Universität Tübingen. Ab dem Sommersemester 1970 studierte ich an der Universität Münster Zahnmedizin. Nach dem Vorphysikum 1971, dem Physikum 1973 und dem Staatsexamen am 6. Januar 1976 erhielt ich meine Bestattungsurkunde am 21. Januar 1976. Seit dieser Zeit übe ich meinen Beruf, zuerst als Assistent, ab Oktober 1978 als selbständiger Zahnarzt aus.

Am 14. September 1973 heiratete ich meine jetzige Ehefrau Annemarie Schwaab, geborene Mies. Eine Tochter und zwei Söhne wurden uns geboren.









